

# **Deteção rápida de adulterações de azeites com óleos de sementes**

**Pedro Diogo Raposo Fernandez**

*Dissertação para a obtenção do Grau de Mestre em*  
***Engenharia Alimentar***

Orientador(es):     Doutora Maria Suzana Leitão Ferreira Dias Vicente  
                              Doutor José Carlos de Carvalho Rodrigues

Júri:

Presidente:

Doutora Margarida Gomes Moldão Martins, Professora Associada com Agregação do(a) Instituto Superior de Agronomia da Universidade de Lisboa.

Vogais:

Doutora Maria Suzana Leitão Ferreira Dias Vicente, Professora Associada com Agregação do(a) Instituto Superior de Agronomia da Universidade de Lisboa

Doutora Natália Maria Ferreira Rebelo de Melo Osório, Professora Adjunta Convidada do(a) Escola Superior de Tecnologia do Barreiro do Instituto Politécnico de Setúbal.



## Resumo

O objetivo deste trabalho é utilizar métodos rápidos e não destrutivos (espectroscopia de infravermelho FT-NIR e FTIR-ATR) na detecção de adulterações de azeites virgens com a adição de óleos de semente (óleos de amendoim, colza, girassol, milho, sésamo, soja e grão de uva) e azeite refinado.

Para a realização deste trabalho foram utilizados cinco azeites virgens na preparação de misturas de azeite com um óleo adulterante em diferentes proporções (2, 4, 6, 8 e 20%). Analisaram-se ainda mais 14 azeites monovarietais com o objetivo de verificar se a variabilidade da composição dos azeites afetava a detecção das adulterações. Foram ainda preparadas misturas de azeite virgem com elevadas concentrações de óleo de girassol e óleo de soja (60, 70, 80 e 90%) na tentativa de identificar o grau de adulteração de sete amostras de azeite virgem adulteradas com um óleo de semente desconhecido em concentrações desconhecidas.

Foi utilizada a Análise em Componentes Principais (Principal Components Analysis, PCA) na avaliação da distribuição das amostras.

Com este trabalho conclui-se que os métodos estudados, em particular o FT-NIR são eficientes na detecção de adulterações de azeites virgem com a adição de óleos de semente trazendo vantagens em relação aos métodos convencionais, por serem rápidos e não destrutivos. Contudo, a utilização destas técnicas para detecção de adulterações com baixas concentrações de óleo adulterante (menor que 20%) é apenas possível se conhecermos os azeites iniciais, devido à grande variabilidade na composição dos azeites.

Palavras chave: Adulteração, Azeites, Óleo de sementes, FT-NIR e FTIR-ATR

## Abstract

The aim of this study is to use fast and non-destructive methods (infrared spectroscopy, FT-NIR and FTIR-ATR) for the detection of virgin olive oil adulterations with the addition of seed oils (peanut, rapeseed, sunflower, corn, sesame, soybean and grape seed oils) or refined olive oil.

Five virgin olive oils were used in the preparation of the mixtures of olive oil with seed oil in different concentrations (2, 4, 6, 8 and 20%). In addition, 14 more monovarietal olive oils were analyzed to verify the effect of the variability in the composition of the olive oils on the detection of the adulterations. Mixtures of virgin olive oil with high concentrations of sunflower oil and soybean oil (60, 70, 80 and 90%) were also prepared in an attempt to identify the degree of adulteration of seven adulterated virgin olive oil samples with an unknown seed oil in unknown concentrations.

Principal Components Analysis (PCA) was used to evaluate sample distribution.

In conclusion, the methods, the FT-NIR in particular, showed to be adequate for the detection of virgin olive oil adulterations with seed oils, with recognized advantages over the conventional methods, for being fast and non-destructive. However, the use of these techniques for the detection of adulterations with low concentration of adulterating oil (under 20%) is only possible if the original olive oils are known, due to the high variability in the composition of the olive oils.

Key-Words: adulteration, olive oil, seed oils, FT-NIR and FTIR-ATR

## Índice

|       |  |    |
|-------|--|----|
| 1     | Enquadramento geral e objectivos.....  | 8  |
| 2     | Introdução.....  | 11 |
| 2.1   | Composição em ácidos gordos dos azeites e óleos de semente.....                              | 11 |
| 2.2   | Técnicas de extracção do Azeite.....   | 11 |
| 2.3   | Avaliação da qualidade e pureza do azeite .....  | 16 |
| 2.4   | Classificação do azeite.....   | 19 |
| 2.5   | Adulterações no Azeite Virgem .....  | 20 |
| 2.6   | Aplicação da espectroscopia de infravermelho médio e próximo na análise de lípidos           |    |
|       | 21   |    |
| 3     | Materiais e Métodos.....   | 23 |
| 3.1   | Azeites e Óleos .....  | 23 |
| 3.1.1 | Preparação das amostras de azeite adulteradas .....  | 24 |
| 3.2   | Métodos .....  | 28 |
| 3.2.1 | Composição em ácidos gordos das amostras utilizadas .....                                    | 28 |
| 3.2.2 | Espectroscopia de infravermelho.....   | 28 |
| 3.2.3 | Análise em Componentes Principais .....  | 28 |
| 4     | Resultados e Discussão .....   | 29 |
| 4.1   | Deteção de amostras adulteradas.....   | 29 |
| 4.2   | Diferenciação de adulterações de baixas concentrações em 30 azeites virgens.....             | 44 |
| 4.3   | Validação das técnicas na identificação de azeites adulterados com óleos desconhecidos ..... | 47 |
| 5     | Conclusões.....  | 50 |
| 6     | Bibliografia.....  | 51 |

## Índice de Figuras

|   |    |
|---|----|
| Figura 1– Diagrama de extração de azeite (Gomes, 2015).....   | 13 |
| Figura 2– Árvore de decisão para verificação da conformidade de uma amostra de azeite declarado como azeite virgem extra. (Fonte: Regulamento (CEE) Nº 2568/91) .....   | 17 |
| Figura 3– Árvore de decisão para verificação da conformidade de uma amostra de azeite declarado como azeite virgem. (Fonte: Regulamento (CEE) Nº 2568/91) .....   | 18 |
| Figura 4– Árvore de decisão para verificação da pureza dos azeites virgens e azeites virgens extra. (Fonte: Regulamento (CEE) Nº 2568/91).....  | 19 |
| Figura 5 - Projeção dos espectros de azeites (azul) e óleos vegetais (vermelho) (amendoim, colza, milho, sésamo e grão de uva) puros no primeiro plano principal. A -- espectros FT-NIR no intervalo de comprimentos de onda de $6100\text{ cm}^{-1}$ a $5450\text{ cm}^{-1}$ ; B - espectros no FTIR-ATR, no intervalo de comprimentos de onda de $3100\text{ cm}^{-1}$ - $2750\text{ cm}^{-1}$ e $1770\text{ cm}^{-1}$ - $500\text{ cm}^{-1}$ ..... | 31 |
| Figura 6– Projeção dos espectros de azeite virgem (azul) e azeite virgem adulterado com óleo de amendoim (castanho) em concentrações de 2, 4, 6, 8 e 20% (m/m) no primeiro plano principal. Espectros FT-NIR no intervalo de comprimentos de onda de $6100\text{ cm}^{-1}$ a $5450\text{ cm}^{-1}$ .....  | 32 |
| Figura 7– Projeção dos espectros de azeite virgem (azul) e azeite virgem adulterado com óleo de amendoim (castanho) em concentrações de 2, 4, 6, 8 e 20% (m/m) no primeiro plano principal. Espectros FTIR-ATR, no intervalo de comprimentos de onda de $3100\text{ cm}^{-1}$ - $2750\text{ cm}^{-1}$ e $1770\text{ cm}^{-1}$ - $500\text{ cm}^{-1}$ .....  | 33 |
| Figura 8– Projeção dos espectros de azeite virgem (azul) e azeite virgem adulterado com óleo de colza (castanho) em concentrações de 2, 4, 6, 8 e 20% (m/m) no primeiro plano principal. Espectros FT-NIR no intervalo de comprimentos de onda de $6100\text{ cm}^{-1}$ a $5450\text{ cm}^{-1}$ .....   | 35 |
| Figura 9- Projeção dos espectros de azeite virgem (azul) e azeite virgem adulterado com óleo de girassol (castanho) em concentrações de 2, 4, 6, 8 e 20% (60, 70, 80 e 90% no azeite virgem extra) (m/m) no primeiro plano principal. Espectros FT-NIR no intervalo de comprimentos de onda de $6100\text{ cm}^{-1}$ a $5450\text{ cm}^{-1}$ . ....   | 36 |
| Figura 10- Projeção dos espectros de azeite virgem (azul) e azeite virgem adulterado com óleo de milho (castanho) em concentrações de 2, 4, 6, 8 e 20% (m/m) no primeiro plano principal. Espectros FT-NIR no intervalo de comprimentos de onda de $6100\text{ cm}^{-1}$ a $5450\text{ cm}^{-1}$ .....  | 37 |
| Figura 11- Projeção dos espectros de azeite virgem (azul) e azeite virgem adulterado com óleo de sésamo (castanho) em concentrações de 2, 4, 6, 8 e 20% (m/m) no primeiro   |    |

|  |    |
|--|----|
| plano principal. Espectros FT-NIR no intervalo de comprimentos de onda de 6100cm <sup>-1</sup> a 5450cm <sup>-1</sup> .....  | 38 |
| Figura 12- Projeção dos espectros de azeite virgem (azul) e azeite virgem adulterado com óleo de soja (castanho) em concentrações de 2, 4, 6, 8 e 20% (60, 70, 80 e 90% no azeite virgem extra) (m/m) no primeiro plano principal. Espectros FT-NIR no intervalo de comprimentos de onda de 6100cm <sup>-1</sup> a 5450cm <sup>-1</sup> .....  | 39 |
| Figura 13- Projeção dos espectros de azeite virgem (azul) e azeite virgem adulterado com óleo de gráinha de uva (castanho) em concentrações de 2, 4, 6, 8 e 20% (m/m) no primeiro plano principal. Espectros FT-NIR no intervalo de comprimentos de onda de 6100cm <sup>-1</sup> a 5450cm <sup>-1</sup> .....  | 40 |
| Figura 14- Projeção dos espectros de azeite virgem (azul) e azeite virgem adulterado com azeite refinado (castanho) em concentrações de 2, 4, 6, 8 e 20% (m/m) no primeiro plano principal. Espectros FT-NIR no intervalo de comprimentos de onda de 6100cm <sup>-1</sup> a 5450cm <sup>-1</sup> .....   | 41 |
| Figura 15- Projeção dos espectros de azeite (azul) e azeite adulterado com óleos vegetais (castanho) (sésamo, soja e gráinha de uva) em concentrações de 2, 4, 6, 8 e 20% (m/m) no primeiro plano principal. Espectros FT-NIR no intervalo de comprimentos de onda de 6100cm <sup>-1</sup> a 5450cm <sup>-1</sup> .....  | 42 |
| Figura 16- Projeção dos espectros de azeite (azul) e azeite adulterado com óleos vegetais (castanho) (amendoim, colza, girassol e milho) em concentrações de 2, 4, 6, 8 e 20% (m/m) no primeiro plano principal. Espectros FT-NIR no intervalo de comprimentos de onda de 6100cm <sup>-1</sup> a 5450cm <sup>-1</sup> .....  | 43 |
| Figura 17- Projeção dos espectros de 30 azeites virgens (azul)e de azeites adulterados com óleos vegetais (amendoim, colza, girassol e milho) em concentrações de 2, 4, 6, 8 (castanho) e 20% (vermelho) (m/m) no primeiro plano principal. Espectros FT-NIR no intervalo de comprimentos de onda de 6100cm <sup>-1</sup> a 5450cm <sup>-1</sup> .....   | 45 |
| Figura 18- Projeção dos espectros de 30 azeites virgens (azul)e de azeites adulterados com óleos vegetais (sésamo, soja, gráinha de uva e azeite refinado) em concentrações de 2, 4, 6, 8 (castanho) e 20% (vermelho) (m/m) no primeiro plano principal. Espectros FT-NIR no intervalo de comprimentos de onda de 6100cm <sup>-1</sup> a 5450cm <sup>-1</sup> .....  | 46 |
| Figura 19– Projeção dos espectros de uma amostra de azeite virgem adulterado com óleo desconhecido (verde), de 30 azeites virgens (azul), de óleo de girassol puro (vermelho)e de azeite virgem extra adulterado com óleo de girassol em concentrações de 2, 4, 6, 8, 20, 60, 70, 80 e 90% (castanho) (m/m) no primeiro plano principal. Espectros FT-NIR no intervalo de comprimentos de onda de 6100cm <sup>-1</sup> a 5450cm <sup>-1</sup> ... .. | 48 |

Figura 20- Projeção dos espectros de seis amostras de azeite virgem adulterado com óleo desconhecido (verde), de 30 azeites virgens (azul), de óleo de soja puro (vermelho) e de azeite virgem extra adulterado com óleo de soja em concentrações de 2, 4, 6, 8, 20, 60, 70, 80 e 90% (castanho) (m/m) no primeiro plano principal. Espectros FT-NIR no intervalo de comprimentos de onda de  $6100\text{cm}^{-1}$  a  $5450\text{cm}^{-1}$ . ..... 49



## Índice de Tabelas

|  |    |
|--|----|
| Tabela 1- Composição em ácidos gordos do azeite e dos diferentes óleos vegetais (Fontes: Codex standard for named vegetable oils (2015), Codex Standard for Olive Oils and Olive Pomace Oils, (1999)). | 12 |
| Tabela 2– Análise de lípidos por FTIR e o ou FT-NIR.   | 22 |
| Tabela 3– Códigos das amostras de azeites virgens monovarietais utilizados   | 25 |
| Tabela 4– Códigos das amostras de azeites virgens multivarietais utilizados  | 25 |
| Tabela 5– Códigos das amostras de óleos de semente utilizados  | 25 |
| Tabela 6 - Código de identificação das amostras das misturas de azeites com óleos de amendoim, colza, girassol e milho.  | 26 |
| Tabela 7 – Código de identificação das amostras das misturas de azeites com óleos de sésamo, soja, grão de uva e azeite refinado   | 27 |
| Tabela 8– Código de identificação das amostras de azeite adulterado com óleos de semente desconhecidos   | 28 |
| Tabela 9– Composição em ácidos gordos majoritários dos azeites e óleos utilizados nas amostras de mistura de azeites com óleos de semente.   | 30 |

## 1 Enquadramento geral e objectivos

O azeite é o óleo obtido a partir do fruto da oliveira (*Olea europaea L.*) por meios mecânicos ou processos físicos sem a utilização de solventes ou adjuvantes químicos, e apresenta um grande valor comercial. As suas características organoléticas e os benefícios que o seu consumo traz para a saúde, fazem do azeite o principal componente da dieta Mediterrânica. O controlo da qualidade do azeite é uma preocupação crescente na Comunidade Europeia.

A composição do azeite pode ser dividida em componentes maiores, os acilgliceróis (97-99%) e por componentes menores (1-3%) tais como: hidrocarbonetos (esqualeno), fosfatídeos, esteróis, tocoferóis, vitaminas lipossolúveis, pigmentos e compostos fenólicos e voláteis. Os pigmentos e os componentes fenólicos e voláteis são os principais responsáveis pelas características organoléticas do azeite. As clorofilas são responsáveis pela cor verde e os  $\beta$ -carotenos pela pigmentação amarelada, juntos determinam a coloração do azeite. Os polifenóis estão altamente correlacionados com os atributos “amargo” e “picante” nos azeites. Já os componentes voláteis são responsáveis por uma grande diversidade de aromas no azeite.

A fração fenólica do azeite apresenta propriedades altamente antioxidantes que, juntamente com a sua composição em ácidos gordos monoinsaturados (55-83 % de ácido oleico) e esqualeno ( $C_{30}H_{50}$ ) fazem do azeite um produto extremamente benéfico para a saúde humana (Boskou et al 2006). Os benefícios do consumo de azeite estão de tal forma comprovados pela comunidade científica, mais concretamente pela Autoridade Europeia para a Segurança Alimentar (EFSA), que, de acordo com Regulamento (UE) nº432/2012 em consonância com o Regulamento (CE) nº1924/2006, existem alegações de saúde aplicáveis ao consumo de azeite:

1. O Regulamento (UE) nº432/2012 alega que o consumo de ácido oleico e ácidos gordos mono insaturados e /ou polinsaturados como substituto de gorduras saturadas na alimentação contribui para a manutenção de níveis normais de colesterol no sangue, na condição que os alimentos contenham um elevado teor de ácidos gordos insaturados, tal como referido na alegação “Alto Teor de Gorduras Insaturadas”, constante da lista de anexo do Regulamento (CE) nº1924/2006. Como já foi referido (tabela 1), o azeite é constituído por 55-83% de ácido oleico ( $C_{18:1}$ ) e 3,5-21% de ácido linoleico ( $C_{18:2}$ ) podendo assim, estar dentro dos parâmetros de aplicabilidade da alegação de saúde acima referida.
2. O teor de polifenóis no azeite pode variar entre 1-16 mg/ 20 g de azeite. Caso a concentração de hidroxitirosol e seus derivados seja superior a 5 mg/ 20 g de

azeite, o azeite está apto a alegar que os seus polifenóis contribuem para a proteção dos lípidos do sangue contra as oxidações indesejáveis. Esta alegação tem de ser complementada com a informação de que o consumidor necessita de uma dose diária de 20 g de azeite de modo a obter o efeito benéfico

3. O azeite, sendo uma fonte de vitamina E (20-30 mg/100ml), pode alegar que o seu consumo contribui para a proteção das células contra as oxidações indesejáveis.

Os benefícios do consumo de azeite fazem do azeite o produto no mercado com o crescimento mais elevado na Indústria Alimentar na Europa. Segundo o *International Olive Council*, em 2017/2018, a produção de azeite na União Europeia representa cerca de 66% da produção mundial, produzindo o equivalente a 2.186 mil toneladas de azeite. Cerca de 564 mil toneladas de azeite foram exportados da União Europeia o que corresponde a 60% de toda a exportação de azeite mundial. A Tunísia que produziu 260 mil toneladas de azeite, é a segunda maior exportadora, exportando 200 mil toneladas (21% da exportação mundial e 76% da sua produção). A União Europeia foi a segunda maior importadora de azeite com 180 mil toneladas de azeite importado ficando atrás apenas dos Estados Unidos da América que importaram cerca de 311 mil toneladas, o equivalente a 33% de toda a importação mundial (936 mil toneladas). O Brasil, o Japão e o Canadá foram os países que se seguem na lista de maiores importadores de azeite com 77, 56 e 47 mil toneladas de azeite importado respetivamente.

Em 2017/2018, dentro da União Europeia, a Espanha é o maior produtor (1.260 mil toneladas), o maior exportador (292 mil toneladas) e o maior importador (99 mil toneladas) de azeite. Depois segue-se a Itália com 429 mil toneladas de azeite produzido, 186 mil toneladas de azeite exportado e 64 mil toneladas de azeite importado. Espanha e Itália são responsáveis por 90% de todo o azeite importado pela União Europeia. Em termos de produção, a Grécia e Portugal completam a lista de maiores produtores com 346 mil toneladas e 135 mil toneladas de azeite produzido respetivamente. Portugal foi o terceiro maior exportador de azeite com 58 mil toneladas, seguido pela Grécia com 19 mil toneladas de azeite exportado. A grande procura do azeite e o seu elevado valor comercial leva a uma preocupação acrescida na prevenção e identificação de adulterações.

A adulteração de óleos não apresenta um perigo direto para a segurança alimentar sendo a maior consequência a perda económica. Com exceção do caso ocorrido em 1981, em Espanha, onde azeite foi adulterado com óleo de colza desnaturado para uso industrial, que afetou mais de 20.000 pessoas e ocasionou a morte de mais de 1.000 pessoas (Abaitua *et al.*, 2002). Segundo Ulberth e Buchgraber (2000), podemos identificar três tipos distintos de adulteração, no contexto da autenticidade dos azeites:

1. Adulteração económica através da adição de óleos vegetais de menor valor económico;
2. Adulteração na identificação dos processos de extração e processamento (azeites refinados ou não refinados);
3. Adulteração da caracterização e denominação da sua origem.

Embora existam várias legislações e regulamentos que têm como objetivo assegurar a qualidade e a pureza do azeite, os métodos de análise propostos para o seu controlo requerem bastante tempo e são muito dispendiosos, o que é mais problemático em países mais pobres.

Este trabalho tem como objetivo responder à necessidade de testar de forma rápida e pouco dispendiosa a pureza dos vários tipos de azeite. Neste trabalho, serão testados métodos rápidos na deteção de adulterações de azeite, mais concretamente métodos de espectroscopia de infravermelhos FTIR e NIR.

Para além de testar a viabilidade de utilização destes métodos na deteção de adulterações, pretende-se avaliar quais os tipos de óleo de semente possíveis de detetar, independentemente do seu grau de saturação (monoinsaturados ou polinsaturados) e do seu tipo (refinados ou virgens). Os óleos de semente a serem testados são: óleo de amendoim (virgem), óleo de colza (virgem), óleo de girassol (refinado), óleo de milho (refinado), óleo de sésamo (virgem), óleo de soja (refinado) e óleo de grão de uva (refinado). Adicionalmente foi testada a deteção de azeite refinado em azeites virgens através dos mesmos métodos. Identificou-se também, quais os limites mínimos de concentração de adulterante nos azeites, detetáveis através destes métodos.

Dada a variabilidade na composição entre os diferentes azeites monovarietais, foi avaliado se esta variabilidade é superior às diferenças ocorridas nas adulterações de azeite com baixas concentrações de óleo adulterante.

Na tentativa de validar a utilização das técnicas FTIR e NIR na deteção de adulterações de azeites pela adição de óleos de semente, analisaram-se 7 amostras diferentes de azeites adulterados com óleos de semente desconhecidos. Para além de se identificar o óleo adulterante destes azeites, estimou-se o seu grau de adulteração.

## 2 Introdução

### 2.1 Composição em ácidos gordos dos azeites e óleos de semente

Como foi dito anteriormente, os triacilgliceróis são o constituinte maioritário do azeite. A composição em ácidos gordos dos triacilgliceróis presentes no azeite, é uma das principais razões do seu consumo ser tão benéfico para a saúde. O elevado teor em ácidos gordos monoinsaturados, principalmente ácido oleico (C18:1), fazem do azeite uma excelente opção na alimentação humana.

A composição em ácidos gordos não é idêntica para todos os azeites podendo haver pequenas variações. Esta variação depende da zona de produção, do clima, da variedade de azeitona e do seu estado de maturação (Cunha *et al.*, 2006).

Os óleos de semente também constituídos maioritariamente por triacilgliceróis diferem bastante do azeite na sua composição em ácidos gordos, principalmente no seu grau de insaturação. Estes, tais como o azeite, podem apresentar pequenas variações.

O óleo de amendoim apresenta o ácido oleico como constituinte maioritário, mas pode apresentar teores de ácido linoleico superiores aos do azeite. Os óleos de girassol, milho, sésamo, soja e de grão de uva apresentam o ácido linoleico como constituinte maioritário, seguidos do ácido oleico.

Na tabela 1 é possível verificar a composição em ácidos gordos do azeite e dos óleos de semente utilizados neste estudo.

### 2.2 Técnicas de extracção do Azeite

Segundo o Regulamento (UE) 1308/2013, entende-se por azeites virgens, os óleos obtidos a partir do fruto da oliveira unicamente por processos mecânicos ou outros processos físicos, em condições que não alterem o azeite, e que não tenham sido submetidos a outros tratamentos além da lavagem, da decantação, da centrifugação ou da filtração, com exclusão dos azeites obtidos com solventes, com adjuvantes de ação química ou bioquímica ou por processos de reesterificação, bem como de qualquer mistura com óleos de outra natureza (figura 1).

As principais cultivares de oliveiras portuguesas para a produção de azeite são: Galega vulgar, Cobrançosa, Cordovil de Serpa, Verdeal Alentejana, Verdeal Transmontana, Madural, Maçanilha Algarvia e Blanqueta. Embora, nos tempos mais recentes, tenham sido introduzidas algumas cultivares espanholas em Portugal, como é o caso da Arbequina, da Hojiblanca e do Picual.

Tabela 1- Composição em ácidos gordos do azeite e dos diferentes óleos vegetais (Fontes: Codex standard for named vegetable oils (2015), Codex Standard for Olive Oils and Olive Pomace Oils, (1999)).

|                        | Azeites Virgens | Azeite/Azeite refinado | Óleo de amendoim | Óleo de colza | Óleo de girassol | Óleo de milho | Óleo de sésamo | Óleo de soja | Óleo de grão de uva |
|------------------------|-----------------|------------------------|------------------|---------------|------------------|---------------|----------------|--------------|---------------------|
| <b>C14:0</b>           | ND              | ND                     | ND-0,1           | ND-0,2        | ND-0,2           | ND-0,3        | ND-0,1         | ND-0,2       | ND-0,3              |
| <b>C16:0</b>           | 7,5-20,0        | 7,5-20,0               | 8,0-14,0         | 2,5-7,0       | 5,0-7,6          | 8,6-16,5      | 7,9-12         | 8,0-13,5     | 5,5-11,0            |
| <b>C16:1</b>           | 0,3-3,5         | 0,3-3,5                | ND-0,2           | ND-0,6        | ND-0,3           | ND-0,5        | ND-0,2         | ND-0,2       | ND-1,2              |
| <b>C17:0</b>           | ND-0,3          | ND-0,3                 | ND-0,1           | ND-0,3        | ND-0,2           | ND-0,1        | ND-0,2         | ND-0,1       | ND-0,2              |
| <b>C17:1</b>           | ND-0,3          | ND-0,3                 | ND-0,1           | ND-0,3        | ND-0,1           | ND-0,1        | ND-0,1         | ND-0,1       | ND-0,1              |
| <b>C18:0</b>           | ND-5,0          | ND-5,0                 | 1,0-4,5          | 0,8-3,0       | 2,7-6,5          | ND-3,3        | 4,5 -6,7       | 2,0-5,4      | 3,0-6,5             |
| <b>C18:1</b>           | 55,0-83,0       | 55,0-83,0              | 35,0-69,0        | 51,0-70,0     | 14,0-39,4        | 20,0-42,2     | 34,4-45,5      | 17,0-30,0    | 12,0-28,0           |
| <b>C18:2</b>           | 3,5-21,0        | 3,5-21,0               | 12,0-43,0        | 15,0-30,0     | 48,3-74,0        | 34,0-65,6     | 36,9-47,9      | 48,0-59,0    | 58,0-78,0           |
| <b>C18:3</b>           | ND-1,5          | ND-1,5                 | ND-0,3           | 5,0-14,0      | ND-0,3           | ND-2,0        | 0,2-1,0        | 4,5- 11,0    | ND-1,0              |
| <b>C20:0</b>           | ND-0,6          | ND-0,6                 | 1,0-2,0          | 0,2-1,2       | 0,1-0,5          | 0,3-1,0       | 0,3-0,7        | 0,1-0,6      | ND-1,0              |
| <b>C20:1</b>           | ND-0,4          | ND-0,4                 | 0,7-1,7          | 0,1-4,3       | ND-0,3           | 0,2-0,6       | ND-0,3         | ND-0,5       | ND-0,3              |
| <b>C22:0</b>           | ND-0,2          | ND-0,2                 | 1,5-4,5          | ND-0,6        | 0,3-1,5          | ND-0,5        | ND-1,1         | ND-0,7       | ND-0,5              |
| <b>C24:0</b>           | ND-0,2          | ND-0,2                 | 0,5-2,5          | ND-0,3        | ND-0,5           | ND-0,5        | ND-0,3         | ND-0,5       | ND-0,4              |
|                        | <b>Trans</b>    |                        |                  |               |                  |               |                |              |                     |
| <b>C18:1T</b>          | ND              | ND-0,2                 |                  |               |                  |               |                |              |                     |
| <b>C18:2T + C18:3T</b> | ND              | ND-0,3                 |                  |               |                  |               |                |              |                     |

ND - não detetável, definido como  $\leq 0,05\%$

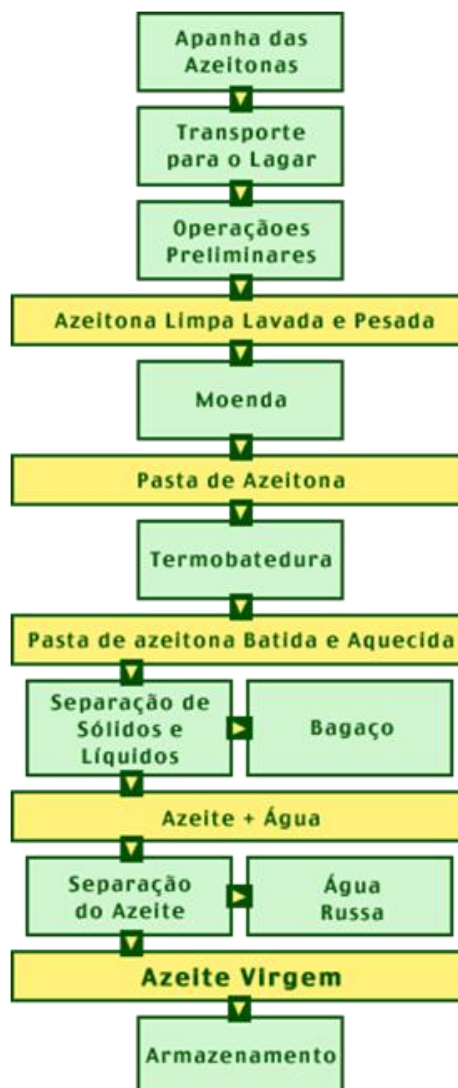


Figura 1– Diagrama de extração de azeite (Gomes, 2015)

O controlo dos parâmetros tecnológicos nas diferentes fases de extração do azeite têm um papel fundamental não só no rendimento como nas propriedades químicas e sensoriais do produto final, começando desde logo nas chamadas operações preliminares.

A maturação das azeitonas tem uma grande influência nos compostos fenólicos, observando-se uma clara diminuição dos mesmos à medida que a azeitona amadurece (Peres, 2016). Por outro lado, a percentagem de gordura disponível aumenta com o tempo de maturação (Baer, 2006). Por isso, a colheita deve ser sempre feita de acordo com as características pretendidas do produto final. Caso se pretenda produzir um azeite com um sabor mais complexo e característico da azeitona e com maior teor em compostos bioativos como os compostos fenólicos, a colheita deverá ser realizada mais cedo, antes da maturação total da azeitona. Caso se pretenda apenas produzir a maior quantidade possível de azeite com prejuízo na qualidade do azeite, a colheita deve ser feita após a maturação da azeitona.

Para além da colheita, fazem parte das operações preliminares a separação, a limpeza e o transporte das azeitonas para o lagar. Chegado-se ao lagar, as azeitonas são descarregadas, classificadas, limpas, lavadas e pesadas. Todas estas operações devem ser realizadas o mais higienicamente possível evitando contaminações cruzadas. Estão então reunidas as condições para se iniciar a extração do azeite.

A extração do azeite consiste na separação do bagaço (fase sólida) da fase líquida (o azeite propriamente dito). Primeiro é necessário transformar a azeitona numa pasta, através da moenda. A moenda tem como objetivo destruir os tecidos vegetais que formam a azeitona e assim libertar os glóbulos de azeite. Os fatores condicionantes que aumentam as perdas de azeite são: elevado tempo de operação, grau de moenda muito fino, grande superfície de contacto da massa com ar, alta velocidade de agitação, adição de água e o estado sanitário deficiente dos frutos. A moenda pode ser realizada num sistema descontínuo, por um moinho de galgas cilíndricas ou num sistema contínuo, por moinho de martelos.

- Sistema descontínuo – há maior superfície de contacto com o ar reduzindo a concentração de compostos fenólicos na pasta (Di Giovacchino *et al.*, 2002, Amirante *et al.*, 2007)
- Sistema Contínuo – apresenta uma elevada capacidade de elaboração com baixos custos de instalação. Extração mais eficiente dos pigmentos da azeitona com perdas menores de compostos fenólicos. Tem a desvantagem de aumentar a temperatura da pasta (13-15°C acima da temperatura ambiente) podendo ocorrer a formação de emulsões.

Após a moenda vem a termobatedura. A termobatedura tem como objetivo a coalescência dos glóbulos de azeite libertados na moenda e a formação de uma fase contínua oleosa separada dos sólidos da pasta e da fase aquosa. Tal como o nome indica, nesta etapa, ocorre um batimento lento da massa com um aumento ligeiro da temperatura. Recomenda-se um tempo de operação não superior a 90 minutos a uma velocidade de 14-18 rotações por minuto. O aumento de temperatura permite o aumento de rendimento na extração de azeite bem como o aumento da concentração de polifenóis mas, um aumento excessivo provoca defeitos organoléticos no azeite, mais concretamente o atributo negativo de “flavour” a cozido ou queimado (Peres *et al.*, 2017). A temperatura recomendada na termobatedura varia entre os 25-30°C, nunca ultrapassando os 35°C.

Segue-se a separação de sólidos e líquidos. Esta separação pode ser realizada por prensagem (Sistema Clássico ou descontínuo) ou por centrifugação (Sistema Contínuo).



- O sistema clássico de extração de azeite é um procedimento mais artesanal utilizando-se prensas hidráulica. A separação do mosto oleoso (água rússas e azeite) da fase sólida (bagaço de azeitona) é feita por pressão.
- No sistema contínuo, a separação das fases é feita por centrifugação nuns decantadores (centrifugadoras horizontais, “decanters”). É um sistema mais rápido e eficaz que não necessita de paragens do equipamento. A pasta ao ser submetida à força centrífuga, separa-se consoante as densidades das diferentes fases. O bagaço (fase sólida) por ser mais denso vai -se localizar junto à parede enquanto o azeite por ser menos denso formará uma fase oleosa perto do eixo de rotação. A camada intermédia é constituída pelas águas residuais. Existem dois tipos de sistemas contínuos:
  - Sistema de duas fases – fase aquosa sai juntamente com fase sólida;
  - Sistema de três fases – fase aquosa sai separada da fase sólida e da fase oleosa.

Segundo Di Giovacchino et al (2001), o sistema de extração mais eficiente na produção de azeite é o sistema contínuo de duas fases, apresentando maior rendimento de extração de azeite.

No sistema clássico, a fase líquida obtida no processo de separação de sólido/líquido, não é apenas azeite mas sim, uma mistura de azeite com água de vegetação, natural da azeitona, e com água que foi adicionada ao processo de extração. É necessário proceder-se à separação das fases líquidas. Esta separação pode ser realizada de duas formas distintas:

- Decantação – forma tradicional de separação feita em tanques (tarefas) ligados entre si, por diferença de densidades. O azeite por ter menor densidade que as águas rússas, tende a vir ao de cima, enquanto as águas rússas se depositam na parte inferior dos tanques. O azeite é então retirado para outro tanque onde fica novamente a repousar. Este sistema de separação é mais demorado e requer uma área de trabalho superior.
- Centrifugação vertical – a separação das fases líquidas é feita numa centrífuga vertical com rotações na ordem dos 6000-7000 rpm de forma contínua.

Por fim, procede-se ao armazenamento do produto final. Os principais cuidados a ter no armazenamento passam principalmente pela higiene dos depósitos que devem ser de aço inox, altos e estreitos com fundo inclinado ou cónico. O seu enchimento deve ser feito a partir do fundo ou utilizando uma tubagem limpa. A temperatura dos armazéns não deve exceder os 15-18°C.

Antes de embalar o azeite, pode-se realizar uma filtração de modo a eliminar impurezas.

Caso os azeites virgens apresentem características indesejadas que impeçam o seu consumo direto (azeite lampante), devem ser posteriormente refinados. O processo de refinação tem três etapas (desacidificação, descoloração e desodorização) e visa remover características indesejadas como acidez elevada ou cheiros e sabores anómalos dos azeites lampantes. Para poder ser comercializado, o azeite refinado tem de ser lotado com azeites virgens, dando origem ao produto comercial designado de “azeite”.

### 2.3 Avaliação da qualidade e pureza do azeite

Atendendo às necessidades na regulação e autenticação de Azeites, a Comunidade Económica Europeia, no regulamento (CEE) Nº 2568/91 definiu as características físico-químicas e organoléticas dos diferentes tipos de azeite (Anexo 1, 2, 3 e 4), bem como o estabelecimento de métodos de análise química e de apreciação organolética de forma a assegurar a sua qualidade e pureza. Estas análises são necessárias para se poder classificar corretamente um azeite. Existem dois tipos de critérios quando se pretende avaliar um azeite: critérios de qualidade e critérios de pureza.

Os critérios de qualidade permitem avaliar a conformidade da categoria declarada nos azeites. Como é possível observar na árvores de decisão para azeites virgens extra (figura 2) e azeites virgens (figura 3), são realizados testes de acidez, índice de peróxidos, espectrometria no UV, avaliação organolética e ésteres etílicos de ácidos gordos, estando também estabelecidos os seus valores de conformidade.

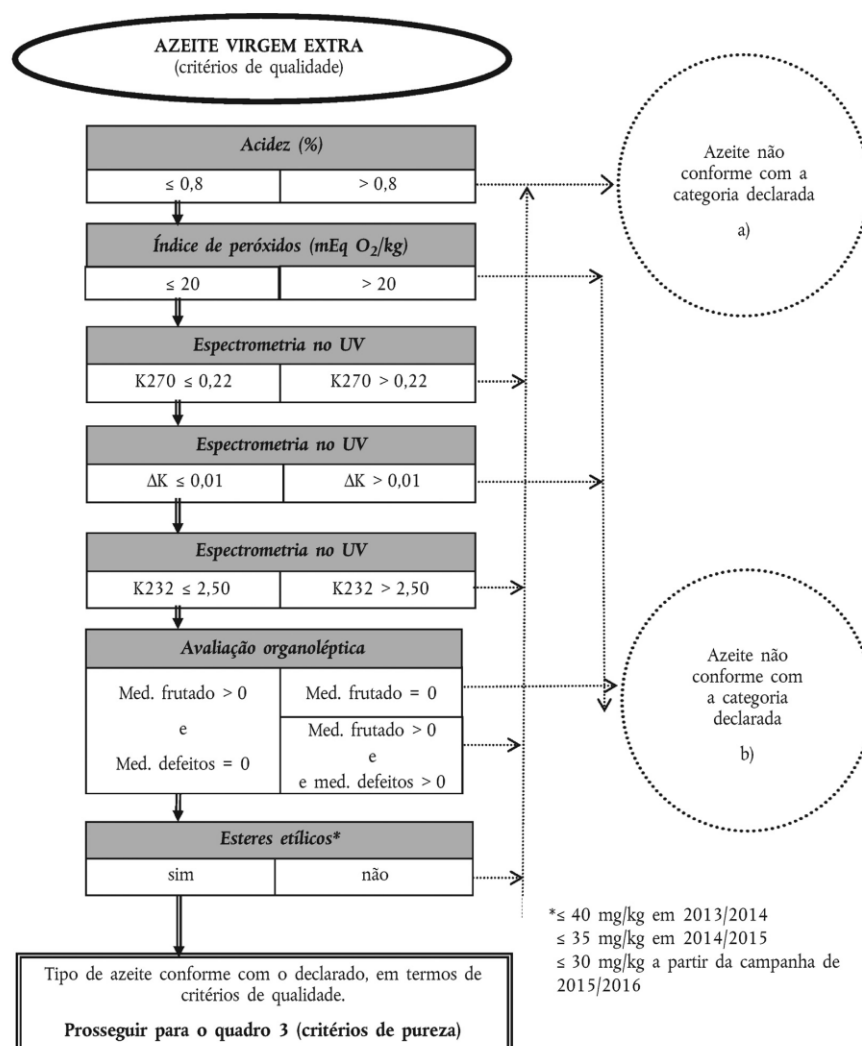


Figura 2— Árvore de decisão para verificação da conformidade de uma amostra de azeite declarado como azeite virgem extra. (Fonte: Regulamento (CEE) N° 2568/91)

Como é possível observar nas árvores de decisão dos critérios de qualidade dos azeites (figura 2 e figura 3), após confirmada a conformidade da qualidade do azeite, é necessário prosseguir para a árvore de decisão dos critérios de pureza.

Os critérios de pureza permitem identificar adulterações nos azeites. Como é possível observar na árvore de decisão dos critérios de pureza para azeites virgens e azeites virgens extra (figura 4), são necessários realizar várias análises químicas. Estas análises são extremamente importantes na avaliação dos azeites mas, a necessidade de optar por estes métodos na deteção de adulterações torna todo o processo bastante demorado e dispendioso.

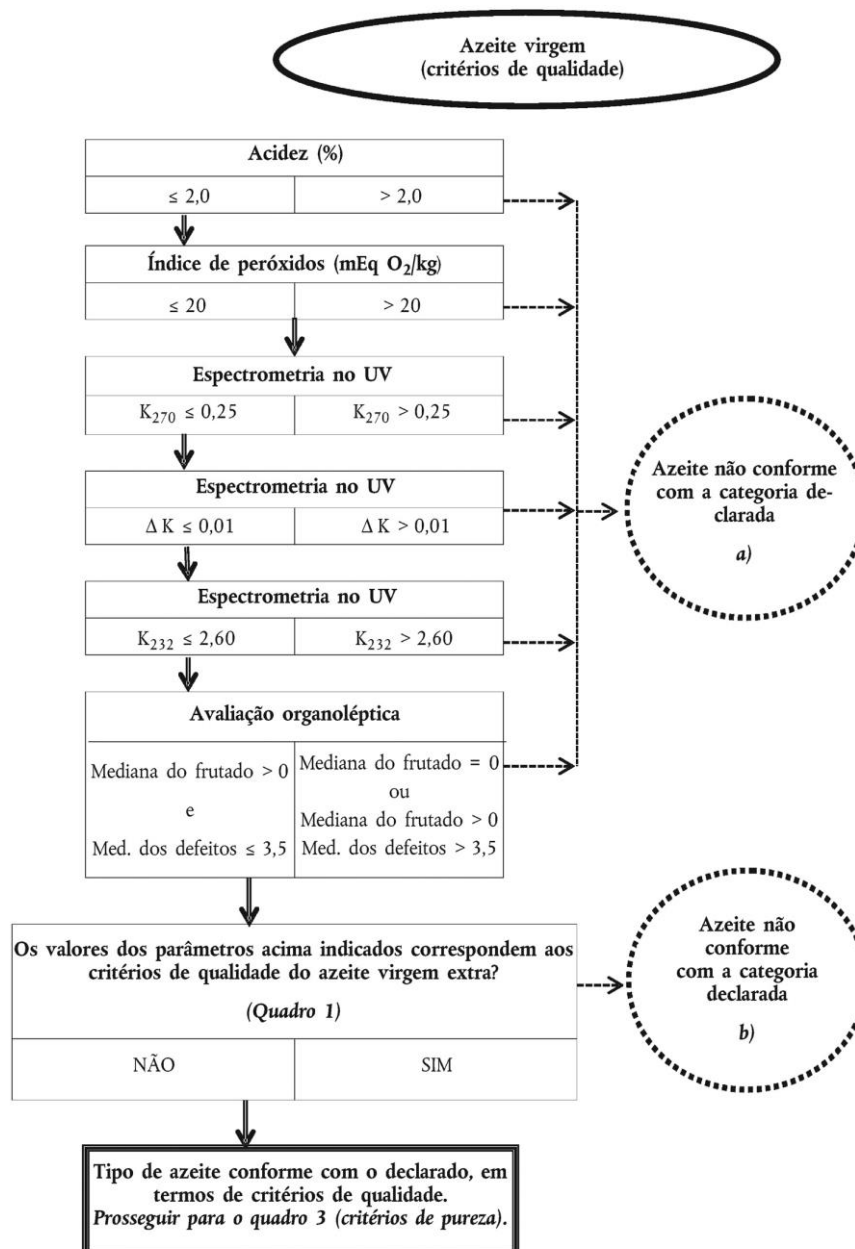


Figura 3— Árvore de decisão para verificação da conformidade de uma amostra de azeite declarado como azeite virgem. (Fonte: Regulamento (CEE) Nº 2568/91)

As análises dos estigmatadienos e dos isómeros *trans* de ácidos gordos são adequadas para detetar adulterações em azeites virgens por adição de azeites ou óleos vegetais refinados, uma vez que os estigmatadienos formam-se durante a descoloração e os isómeros *trans* durante a desodorização, ambas operações da refinação. A análise do teor de ácidos gordos, do ΔNCE42 e da composição em esteróis e esteróis totais são métodos de deteção de adulterações de azeite pela adição de óleos de semente. Já a análise das ceras e do eritrodiol + uvaol permitem detetar adulterações de azeites pela adição de óleo de bagaço de azeitona.

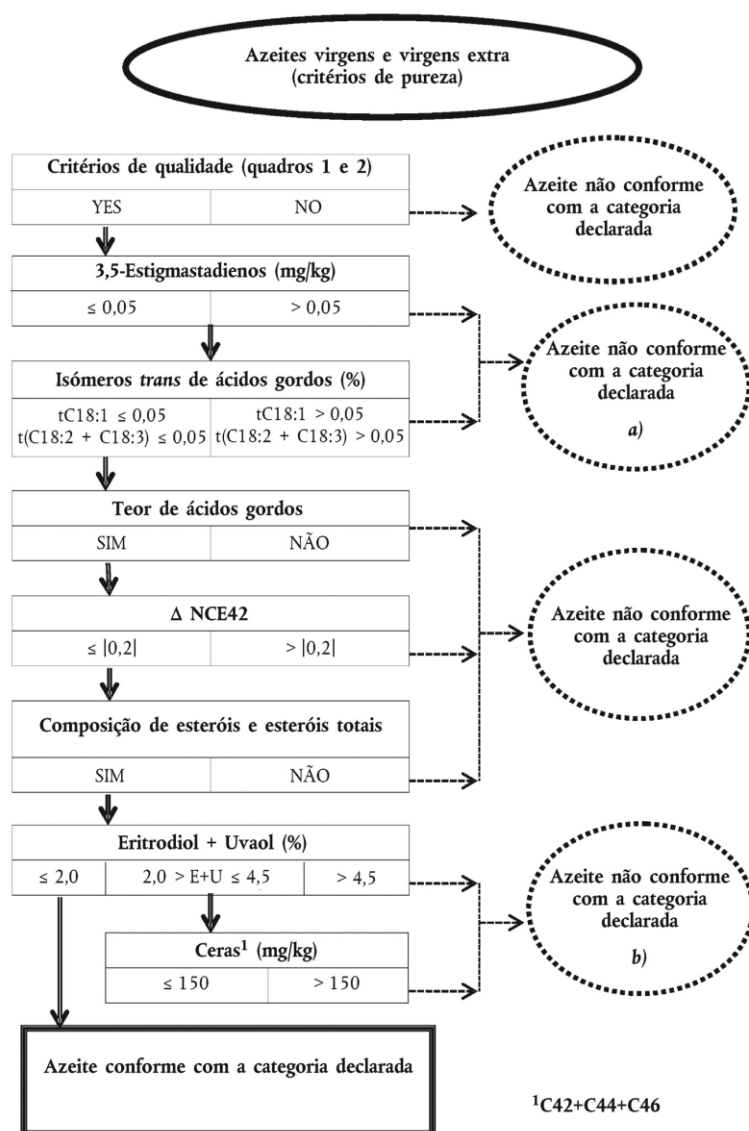


Figura 4— Árvore de decisão para verificação da pureza dos azeites virgens e azeites virgens extra.  
(Fonte: Regulamento (CEE) N° 2568/91)

## 2.4 Classificação do azeite

Após garantida a genuinidade e a conformidade das características de qualidade (química e sensorial) dos azeites virgens, através dos métodos do Conselho Oleícola Internacional adotados pela União Europeia, os azeites virgens são classificados em três categorias: azeite virgem extra, azeite virgem e azeite lampante.

1. Azeite virgem extra é o azeite considerado de melhor qualidade, apresenta uma acidez livre, expressa em ácido oleico, inferior a 0,8g por 100g e na análise sensorial a mediana dos defeitos tem de ser igual a zero e a mediana do frutado superior a zero.
2. Azeite virgem é um azeite com uma acidez livre expressa em ácido oleico, inferior a 2%. Dependendo da análise sensorial podemos ter azeite virgem

(mediana dos defeitos entre 0-3,5 e mediana do frutado superior a zero) ou azeite virgem corrente (mediana dos defeitos entre 3,5-6 e mediana do frutado superior a zero ou mediana dos defeitos inferior a 3,5 com mediana do frutado igual a 0).

Ambos os azeites virgens extra e o azeite virgem podem ser comercializados diretamente após a sua extração.

3. Azeite Lampante é um azeite de menor qualidade que só pode ser comercializado após refinação e posterior lotação com azeites virgens. Este tipo de azeite apresenta índices de acidez livre, expressa em ácido oleico, superiores a 2% e/ou na análise sensorial apresenta valores na mediana dos defeitos superiores a seis.

Após refinação do azeite lampante e a sua lotação com azeite virgem, passamos a ter uma terceira categoria de azeite comercial denominado simplesmente de “azeite”. Este azeite tem de apresentar uma acidez livre, expressa em ácido oleico, não superior a 1% e as outras características de qualidade conforme as previstas para esta categoria (anexo 1, 2 e 4).

## 2.5 Adultrações no Azeite Virgem

A procura por azeites de alta qualidade rentabilizou de tal modo o mercado que, segundo Mueller (2007), a adultração de azeite tornou-se na maior fonte de fraude na indústria alimentar na União Europeia. Bogle constatou em 2012 que embora apenas 10% da produção de azeite obtenha a classificação de virgem extra, cerca de 50% dos azeites comercializados possuem esta rotulagem. Abaixo estão identificados alguns casos de adultração de azeites virgens ocorridos um pouco por todo o mundo.

Em 1993, a FDA efetuou uma recolha de óleo de canola que estava rotulado como azeite em Cincinnati nos EUA. Wright (2000) reportou que em 1999 culminou uma investigação feita no Canadá através da *Canadian Food Inspection Agency* que concluiu que 20% das amostras de azeites testadas eram falsas, adultraadas com óleo de girassol, óleo de bagaço de azeitona ou óleo de colza.

Em 2007, Mueller relatou que a maior parte dos navios italianos que efetuam o transporte de azeite, adultraavam rotineiramente as suas cargas de tal modo que apenas 40% do azeite classificado de virgem extra cumpria as especificações necessárias. Em alguns casos o azeite era adultraado através da adição de óleo de colza. As adultrações eram de tal modo vulgares que o governo Italiano tomou medidas, mandatando uma nova lei no que à rotulagem diz respeito, obrigando à especificação

da origem dos azeites (local de produção e de extração) e à identificação detalhada dos óleos utilizados no caso de misturas de óleos.

Moore (2008) reportou que em Itália foi descoberto um esquema de falsificação de rótulos de azeites que falsamente identificavam a sua origem como Italiana, através da operação *Golden Oil*. Cerca de 85 herdades foram confiscadas resultando na detenção de 23 pessoas. Também em 2008, Pisa reportou que em Itália, foram confiscados 25000 litros de óleo de soja e de óleo de girassol que, ao adicionarem clorofila, eram então vendidos como azeite virgem extra. Quarenta pessoas foram detidas.

Buttler (2013) reportou que numa convenção de Autenticação de Azeites realizada em Madrid, foi exposto que cerca de 23% das amostras testadas de azeites comercializados em Espanha e 33% no Canadá falharam testes de autenticação. Em Espanha, grande parte das falhas de autenticação estavam relacionadas com a qualidade e pureza dos azeites (rotulagem incorreta e identificação errada de azeites virgens extra) embora tenham sido identificadas algumas adulterações através da adição de azeite refinado. No Canadá foram identificadas adulterações por adição de óleos vegetais (óleo de colza, óleo de girassol e óleo de soja) e de azeite refinado a azeite virgem.

Em 2018, numa investigação realizada pelo Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento (MAPA) no Brasil, foram apreendidos 700 mil litros de azeite. A investigação abrangeu, 107 marcas de 65 empresas em que cerca de 60% dessas marcas comercializavam azeites adulterados. Cerca de 300 mil litros de azeite encontravam-se adulterados enquanto os outros 400 mil litros estavam mal rotulados. A adulteração mais comum foi a adição de outros óleos vegetais (fonte: AGROemDIA).

A 28 de Setembro de 2018, o Jornal de Notícias noticiou que a ASAE apreendeu cerca de 2000 garrafas de azeite virgem adulterado com azeite refinado.

## 2.6 Aplicação da espectroscopia de infravermelho médio e próximo na análise de lípidos

A espectroscopia de infravermelho, quer médio FTIR, quer próximo (NIR) têm sido utilizados com sucesso, quer do ponto de vista qualitativo quer quantitativo, para a caracterização de óleos e gorduras, desde a classificação e identificação de ácidos gordos, à identificação da origem geográfica, na análise da composição de óleos e gorduras bem como na sua autenticação (Tabela 2).

A espectroscopia de infravermelho médio é a região espectral que vai dos 4000 a 400  $\text{cm}^{-1}$  números de onda e corresponde às vibrações fundamentais, maioritariamente alongamento e deformação dos grupos funcionais. Os lípidos têm grupos funcionais que

absorvem fortemente no FTIR nomeadamente o grupo carbonilo (C=O) e os grupos alquilo alifáticos (C-H<sub>2</sub>). A utilização do acessório de reflexão total atenuada (ATR) para líquidos compete com o NIR em simplicidade e rapidez.

A espectroscopia de infravermelho próximo (NIR) cobre a região espectral dos 12000 a 4000 cm<sup>-1</sup> e corresponde aos sobretons e combinações de banda das vibrações fundamentais (FTIR) dos grupos funcionais C-O, O-H, C-H, e N-H. É um método bastante rápido e sem necessidade de preparações elaboradas das amostras.

Tabela 2– Análise de lípidos por FTIR e o ou FT-NIR.

| Material  | Método | Objetivo   | Referência                        |
|---|--------|--|-----------------------------------|
| Óleos de elevada acidez (e.g. utilizados em fritura, removidos das terras activadas usadas na refinação; destilados da refinação física), sub-produtos da hidrogenação, óleos de peixe, lecitinas e sabões sódicos de ácidos gordos | FT-IR  | Classificação e identificação das diferentes gorduras        | Bella <i>et al.</i> (2007)        |
| Sementes de girassol  | FT-NIR | Quantificação de tocoferóis                                  | Berger <i>et al.</i> (2007)       |
| Sementes de colza   | FT-NIR | Determinação de ácidos gordos presentes em sementes de colza | Choung <i>et al.</i> (2007)       |
| Azeites virgens, óleo de girassol, óleo de colza e óleo de algodão  | FT-IR  | Determinação de adulterações de azeites virgens              | Gurdeniz <i>et al.</i> (2009)     |
| Óleo de soja, óleo girassol, óleo de colza, gordura de palma, óleo de amendoim  | FT-IR  | Determinação de ácidos gordos <i>trans</i>                   | Filho (2014)                      |
| Azeites, óleo de girassol, óleo de sésamo, óleo de milho,   | FT-IR  | Avaliar composição de misturas de óleos alimentares          | Cabo <i>et al.</i> (1999)         |
| Bolachas salgadas revestidas de óleo de palma e bolachas e noodles revestidas de óleo de colza  | FT-NIR | Determinação da oxidação lípidica em cereais                 | Baréa <i>et al.</i> (2006)        |
| Azeites virgens extra e óleo de girassol  | FT-NIR | Classificação geográfica de azeites virgens extra            | Davies <i>et al.</i> (2003)       |
| Sementes e óleo de canola   | FT-NIR | Análise da composição de semente de canola                   | Golebiowski (2004)                |
| Óleos de fritura  | FT-NIR | Análise de óleos de fritura                                  | Büning-Pfaue <i>et al.</i> (2001) |



## 3 Materiais e Métodos

### 3.1 Azeites e Óleos

Para a realização deste trabalho utilizaram-se azeites das seguintes categorias comerciais: azeites virgens extra monovarietais, azeites virgens extra multivarietal, azeite virgem, azeite (mistura de azeite virgem com azeite refinado) e azeite refinado (adulterante), conforme listado abaixo.

Os Azeites virgens extra monovarietais utilizados foram os seguintes:

1. Arbequina
2. Azeiteira
3. Carrasquenha
4. Cobrançosa
5. Cordovil 1
6. Cordovil 2
7. Galega 1
8. Galega 2
9. Hojiblanca
10. Koroneiki
11. Maçanilha
12. Passareira
13. Picual Madura
14. Redondil
15. Negrinha
16. Verdeal

Os azeites multivarietais utilizados foram os seguintes:

1. Azeite Virgem Extra
2. Azeite Virgem
3. Azeite (mistura de azeite virgem com azeite refinado)
4. Azeite Refinado

Utilizaram-se os seguintes óleos como adulterantes dos azeites virgens e do azeite:

- 1- óleo de amendoim (prensa, virgem);
- 2- óleo de colza (prensa, virgem e biológico);
- 3- óleo de girassol (refinado);
- 4- óleo de milho (refinado);
- 5- óleo de sésamo (prensa, virgem e biológico);
- 6- óleo de soja (refinado);
- 7- óleo de grão de uva (refinado).

Todos os azeites e óleos foram adquiridos no comércio local, à exceção das amostras de azeite monovarietais 2, 4 a 14, que foram gentilmente cedidas pelo Laboratório de Estudos Técnicos (LET) do Instituto Superior de Agronomia.

As amostras de azeite monovarietais seguintes, por apresentarem alguma turvação, foram sujeitas a filtração com um filtro de seringa: Arbequina, Koroneiki, Hojiblanca, Azeiteira, Redondil, Carrasquenha, Galega 2, Cobrançosa, Cordovil 2 e Passareira.

Utilizaram-se ainda sete amostras de azeites adulterados com óleos desconhecidos.

### 3.1.1 Preparação das amostras de azeite adulteradas

Foram preparadas 200 amostras de azeites adulterados com um dos óleos adulterantes em concentrações de 2, 4, 6, 8 e 20 % (m/m).

Na preparação das amostras adulteradas foram utilizados cinco azeites (Azeite Cordovil Virgem Extra 1, Azeite Galega Virgem Extra 1, Azeite Virgem Extra, Azeite Virgem e Azeite) que foram adulterados, separadamente, com cada um dos sete óleos de semente (óleo de amendoim, óleo de colza, óleo de girassol, óleo de milho, óleo de sésamo, óleo de soja e óleo de grão de uva) e com azeite refinado.

Com base na composição em ácidos gordos das amostras adulteradas com óleos desconhecidos, havia a suspeição de utilização de óleo de girassol e óleo de soja. No sentido de identificar o óleo e de perceber o grau de concentração de adulterante nessas amostras, foram preparadas misturas de azeite virgem extra com concentrações mais elevadas (60, 70, 80 e 90%) de óleo de girassol e de óleo de soja.

Prepararam-se aproximadamente 10 g de cada mistura.

Os códigos de identificação das amostras encontram-se nas Tabela 3 a 8.

Tabela 3– Códigos das amostras de azeites virgens monovarietais utilizados

| Azeite Virgem Extra monovarietal | Código da Amostra | Azeite Virgem Extra monovarietal Filtrados | Código da Amostra    |
|----------------------------------|-------------------|--|----------------------|
| Arbequina                        | P_Arbequina_J     | Arbequina                                  | P_Arbequina_J_fil    |
| Azeiteira                        | P_Azeiteira_G     | Azeiteira                                  | P_Azeiteira_G_fil    |
| Carrasquenha                     | P_Carrasquenha_P  | Carrasquenha                               | P_Carrasquenha_P_fil |
| Cobrançosa                       | P_Cobrançosa_F    | Cobrançosa                                 | P_Cobrançosa_F_fil   |
| Cordovil 1                       | P_VEC_A           | Cordovil 2                                 | P_Cordovil_Aa_fil    |
| Cordovil 2                       | P_Cordovil_Aa     | Galega 2                                   | P_Galega_Bb_fil      |
| Galega 1                         | P_VEG_B           | Hojiblanca                                 | P_Hojiblanca_I_fil   |
| Galega 2                         | P_Galega_Bb       | Koroneiki                                  | P_Koroneika_K_fil    |
| Hojiblanca                       | P_Hojiblanca_I    | Passareira                                 | P_Passareira_H_fil   |
| Koroneiki                        | P_Koroneika_K     | Redondil                                   | P_Redondil_N_fil     |
| Maçanilha                        | P_Maçanilha_Q     |  |                      |
| Passareira                       | P_Passareira_H    |  |                      |
| Redondil                         | P_Redondil_N      |  |                      |
| Verdeal                          | P_Verdeal_L       |  |                      |
| Negrinha                         | P_Negrinha_O      |  |                      |

Tabela 4– Códigos das amostras de azeites virgens multivarietais utilizados

| Azeite multivarietal | Código da Amostra |
|----------------------|-------------------|
| Azeite Virgem Extra  | P_AzVE_C          |
| Azeite Virgem        | P_AzV_D           |
| Azeite               | P_Az_E            |
| Azeite Refinado      | P_AzRef           |

Tabela 5– Códigos das amostras de óleos de semente utilizados

| Óleo de semente     | Código da Amostra |
|---------------------|-------------------|
| Óleo de amendoim    | P_amendoim        |
| Óleo de colza       | P_colza           |
| Óleo de girassol    | P_Girassol        |
| Óleo de milho       | P_milho           |
| Óleo de sésamo      | P_sesamo          |
| Óleo de soja        | P_Soja            |
| Óleo de grão de uva | P_uva             |

Tabela 6 - Código de identificação das amostras das misturas de azeites com óleos de amendoim, colza, girassol e milho.

| [adulterante]<br>(%,<br>m/m) | Tipo de Azeite            | Óleo de<br>amendoim | Óleo de colza | Óleo de<br>girassol | Óleo de milho |
|------------------------------|---------------------------|---------------------|---------------|---------------------|---------------|
| 2%                           | Virgem extra<br>Cordovil1 | M_2_A_amen          | M_2_A_colz    | M_2_A_Gira          | M_2_A_milh    |
|                              | Virgem extra<br>Galega1   | M_2_B_amen          | M_2_B_colz    | M_2_B_Gira          | M_2_B_milh    |
|                              | Virgem extra              | M_2_C_amen          | M_2_C_colz    | M_2_C_Gira          | M_2_C_milh    |
|                              | Virgem                    | M_2_D_amen          | M_2_D_colz    | M_2_D_Gira          | M_2_D_milh    |
|                              | Azeite                    | M_2_E_amen          | M_2_E_colz    | M_2_E_Gira          | M_2_E_milh    |
| 4%                           | Virgem extra<br>Cordovil1 | M_4_A_amen          | M_4_A_colz    | M_4_A_Gira          | M_4_A_milh    |
|                              | Virgem extra<br>Galega1   | M_4_B_amen          | M_4_B_colz    | M_4_B_Gira          | M_4_B_milh    |
|                              | Virgem extra              | M_4_C_amen          | M_4_C_colz    | M_4_C_Gira          | M_4_C_milh    |
|                              | Virgem                    | M_4_D_amen          | M_4_D_colz    | M_4_D_Gira          | M_4_D_milh    |
|                              | Azeite                    | M_4_E_amen          | M_4_E_colz    | M_4_E_Gira          | M_4_E_milh    |
| 6%                           | Virgem extra<br>Cordovil1 | M_6_A_amen          | M_6_A_colz    | M_6_A_Gira          | M_6_A_milh    |
|                              | Virgem extra<br>Galega1   | M_6_B_amen          | M_6_B_colz    | M_6_B_Gira          | M_6_B_milh    |
|                              | Virgem extra              | M_6_C_amen          | M_6_C_colz    | M_6_C_Gira          | M_6_C_milh    |
|                              | Virgem                    | M_6_D_amen          | M_6_D_colz    | M_6_D_Gira          | M_6_D_milh    |
|                              | Azeite                    | M_6_E_amen          | M_6_E_colz    | M_6_E_Gira          | M_6_E_milh    |
| 8%                           | Virgem extra<br>Cordovil1 | M_8_A_amen          | M_8_A_colz    | M_8_A_Gira          | M_8_A_milh    |
|                              | Virgem extra<br>Galega1   | M_8_B_amen          | M_8_B_colz    | M_8_B_Gira          | M_8_B_milh    |
|                              | Virgem extra              | M_8_C_amen          | M_8_C_colz    | M_8_C_Gira          | M_8_C_milh    |
|                              | Virgem                    | M_8_D_amen          | M_8_D_colz    | M_8_D_Gira          | M_8_D_milh    |
|                              | Azeite                    | M_8_E_amen          | M_8_E_colz    | M_8_E_Gira          | M_8_E_milh    |
| 20%                          | Virgem extra<br>Cordovil1 | M_20_A_Am           | M_20_A_Col    | M_20_A_Gir          | M_20_A_Mil    |
|                              | Virgem extra<br>Galega1   | M_20_B_Am           | M_20_B_Col    | M_20_B_Gir          | M_20_B_Mil    |
|                              | Virgem extra              | M_20_C_Am           | M_20_C_Col    | M_20_C_Gir          | M_20_C_Mil    |
|                              | Virgem                    | M_20_D_Am           | M_20_D_Col    | M_20_D_Gir          | M_20_D_Mil    |
|                              | Azeite                    | M_20_E_Am           | M_20_E_Col    | M_20_E_Gir          | M_20_E_Mil    |
| 60%                          | Virgem extra              | -                   | -             | M_60_C_Gir          | -             |
| 70%                          | Virgem extra              | -                   | -             | M_70_C_Gir          | -             |
| 80%                          | Virgem extra              | -                   | -             | M_80_C_Gir          | -             |
| 90%                          | Virgem extra              | -                   | -             | M_90_C_Gir          | -             |

Tabela 7 – Código de identificação das amostras das misturas de azeites com óleos de sésamo, soja, grão de uva e azeite refinado

| [adulterante]<br>(%,<br>m/m) | Tipo de Azeite            | Óleo de<br>sésamo | Óleo de soja | Óleo de<br>grão de<br>uva | Azeite<br>refinado |
|------------------------------|---------------------------|-------------------|--------------|---------------------------|--------------------|
| 2%                           | Virgem extra<br>Cordovil1 | M_2_A_sesa        | M_2_A_Soja   | M_2_A_uva                 | M_2_A_az_r         |
|                              | Virgem extra<br>Galega1   | M_2_B_sesa        | M_2_B_Soja   | M_2_B_uva                 | M_2_B_az_r         |
|                              | Virgem extra              | M_2_C_sesa        | M_2_C_Soja   | M_2_C_uva                 | M_2_C_az_r         |
|                              | Virgem                    | M_2_D_sesa        | M_2_D_Soja   | M_2_D_uva                 | M_2_D_az_r         |
|                              | Azeite                    | M_2_E_sesa        | M_2_E_Soja   | M_2_E_uva                 | M_2_E_az_r         |
| 4%                           | Virgem extra<br>Cordovil1 | M_4_A_sesa        | M_4_A_Soja   | M_4_A_uva                 | M_4_A_az_r         |
|                              | Virgem extra<br>Galega1   | M_4_B_sesa        | M_4_B_Soja   | M_4_B_uva                 | M_4_B_az_r         |
|                              | Virgem extra              | M_4_C_sesa        | M_4_C_Soja   | M_4_C_uva                 | M_4_C_az_r         |
|                              | Virgem                    | M_4_D_sesa        | M_4_D_Soja   | M_4_D_uva                 | M_4_D_az_r         |
|                              | Azeite                    | M_4_E_sesa        | M_4_E_Soja   | M_4_E_uva                 | M_4_E_az_r         |
| 6%                           | Virgem extra<br>Cordovil1 | M_6_A_sesa        | M_6_A_Soja   | M_6_A_uva                 | M_6_A_az_r         |
|                              | Virgem extra<br>Galega1   | M_6_B_sesa        | M_6_B_Soja   | M_6_B_uva                 | M_6_B_az_r         |
|                              | Virgem extra              | M_6_C_sesa        | M_6_C_Soja   | M_6_C_uva                 | M_6_C_az_r         |
|                              | Virgem                    | M_6_D_sesa        | M_6_D_Soja   | M_6_D_uva                 | M_6_D_az_r         |
|                              | Azeite                    | M_6_E_sesa        | M_6_E_Soja   | M_6_E_uva                 | M_6_E_az_r         |
| 8%                           | Virgem extra<br>Cordovil1 | M_8_A_sesa        | M_8_A_Soja   | M_8_A_uva                 | M_8_A_az_r         |
|                              | Virgem extra<br>Galega1   | M_8_B_sesa        | M_8_B_Soja   | M_8_B_uva                 | M_8_B_az_r         |
|                              | Virgem extra              | M_8_C_sesa        | M_8_C_Soja   | M_8_C_uva                 | M_8_C_az_r         |
|                              | Virgem                    | M_8_D_sesa        | M_8_D_Soja   | M_8_D_uva                 | M_8_D_az_r         |
|                              | Azeite                    | M_8_E_sesa        | M_8_E_Soja   | M_8_E_uva                 | M_8_E_az_r         |
| 20%                          | Virgem extra<br>Cordovil1 | M_20_A_Ses        | M_20_A_Soj   | M_20_A_Uva                | M_20_A_AzR         |
|                              | Virgem extra<br>Galega1   | M_20_B_Ses        | M_20_B_Soj   | M_20_B_Uva                | M_20_B_AzR         |
|                              | Virgem extra              | M_20_C_Ses        | M_20_C_Soj   | M_20_C_Uva                | M_20_C_AzR         |
|                              | Virgem                    | M_20_D_Ses        | M_20_D_Soj   | M_20_D_Uva                | M_20_D_AzR         |
|                              | Azeite                    | M_20_E_Ses        | M_20_E_Soj   | M_20_E_Uva                | M_20_E_AzR         |
| 60%                          | Virgem extra              | -                 | M_60_C_Soj   | -                         | -                  |
| 70%                          | Virgem extra              | -                 | M_70_C_Soj   | -                         | -                  |
| 80%                          | Virgem extra              | -                 | M_80_C_Soj   | -                         | -                  |
| 90%                          | Virgem extra              | -                 | M_90_C_Soj   | -                         | -                  |

Tabela 8– Código de identificação das amostras de azeite adulterado com óleos de semente desconhecidos

| Amostra                                     | Código da amostra |
|---|-------------------|
| Azeites adulterados com óleos desconhecidos | M1                |
|   | M2                |
|   | M3                |
|   | M4                |
|   | M5                |
|   | M6                |
|   | M7                |

## 3.2 Métodos

### 3.2.1 Composição em ácidos gordos das amostras utilizadas

Como foi descrito no ponto 2.1, os azeites e os óleos de semente não são uniformes quanto à sua composição em ácidos gordos, por isso, analisou-se a composição em ácidos gordos dos azeites e óleos utilizados neste estudo, nos laboratórios da Escola Superior Agrária de Castelo Branco pela professora Fátima Peres.

### 3.2.2 Espectroscopia de infravermelho

Os espectros foram obtidos num espectrómetro da marca Bruker modelo Alfa com um acessório de reflectância total atenuada (ATR) de cristal de diamante com uma única reflexão, na região dos números de onda entre os 4000 e os 400  $\text{cm}^{-1}$ , com uma resolução de 4  $\text{cm}^{-1}$ . Cada espectro é o resultado da co-adição de 24 varrimentos. Os espectros são obtidos com o software dedicado OPUS (Bruker Optics). Os espectros foram obtidos à temperatura ambiente, tendo sido adquiridos 2 espectros por amostra (réplicas).

Os espectros NIR foram obtidos por transmissão num espectrómetro da marca Bruker modelo MPA, com uma sonda de fibra ótica com uma janela de 1mm. Os espectros foram obtidos na região dos números de onda entre os 12000 e os 4000  $\text{cm}^{-1}$ , com uma resolução de 8  $\text{cm}^{-1}$ . Cada espectro é o resultado da co-adição de 100 varrimentos. Os espectros são obtidos com o software dedicado OPUS (Bruker Optics). Os espectros foram obtidos à temperatura ambiente, tendo sido adquiridos 2 espectros por amostra (réplicas).

### 3.2.3 Análise em Componentes Principais

A análise em componentes principais (Principal Component Analysis, PCA) dos espectros FTIR-ATR e FT-NIR foi realizada utilizando o software Unscrambler (CAMO Analytics AS,

Trondheim, Noruega). Este procedimento tem como objetivo minimizar variações da linha de base dos espectros em função das condições de obtenção dos espectros.

Foi utilizada uma abordagem de análise multivariada, a Análise em Componentes Principais (PCA). Um dos grandes problemas de dados multivariados é o seu enorme volume que pode dificultar a identificação de padrões e correlações. O método PCA permite reduzir o número de dados sem perda de informação relevante.

O objetivo principal da PCA é encontrar as componentes principais que são combinações lineares das variáveis originais, reduzindo o número de variáveis. Assim, em vez de termos centenas de variáveis (cada uma definida por um eixo) ficamos reduzidos a um pequeno número de PCAs (novos eixos), sendo que a primeira componente principal (PCA1) responde à maioria da variação dos nossos dados, depois será a PCA2 a explicar a próxima grande variação e assim sucessivamente. Logo, quando existem correlações significativas, o número de PCs úteis é reduzido. A maior parte das vezes a PC1 e a PC2 respondem à maior parte da variação do conjunto de dados, permitindo representar os dados em duas dimensões, ou seja num plano.

## 4 Resultados e Discussão

### 4.1 Detecção de amostras adulteradas

Em primeiro lugar, é importante verificarmos se existe diferenciação entre as amostras puras de azeite e as amostras puras dos óleos adulterantes. A figura 5 apresenta a projeção dos espectros das amostras puras de azeite e óleos vegetais no plano definido pelas duas primeiras componentes principais.

Como é possível verificar na figura 5, o azeite refinado sobrepõe-se aos azeites virgens e à mistura comercial de azeite. O óleo de grão de uva é o óleo que mais se afasta da região dos azeites, seguido pelo óleo de soja, óleo de girassol, óleo de milho, óleo de sésamo e óleo de colza, enquanto que o óleo de amendoim foi único que apresentou distribuição contrária, sendo o óleo de sementes mais próximo dos azeites. Tal pode ser explicado pelas diferenças na composição química, nomeadamente em ácidos gordos (tabela 9). No caso do azeite refinado, a sua composição em ácidos gordos é bastante similar à dos azeites virgens.

Analisando a tabela 9 em relação à distribuição das amostras na figura 5, as amostras parecem distribuir-se ao longo de uma recta, em função do teor em ácido oleico (C18:1), sendo que o óleo de grão de uva apresenta a menor percentagem de ácido oleico (17,3%), seguindo-se do óleo de soja (26,7%), óleo de girassol (29,3%), óleo de milho (30,9%), óleo de sésamo

(39,1%), óleo de colza (63,9%), e dos diferentes tipos de azeite (70,4-78,7%). O óleo de amendoim tem 75,9% de ácido oleico (valor no intervalo de variação para o azeite) mas encontra-se um pouco afastado dos diferentes tipos de azeite, isto é explicado porque os PCAs não dizem respeito a uma única variável, como foi referido no ponto 4.2.1 (análise em componentes principais). No entanto, o óleo de amendoim é o óleo de sementes que mais se aproxima dos azeites na composição em ácidos gordos, sendo a maior diferença a percentagem de ácido esteárico (C18:0) (7,1% no óleo de amendoim e 2,3-2,9% nos diferentes azeites). Tal pode explicar o afastamento da amostra deste óleo relativamente às amostras de azeite analisadas.

Tabela 9– Composição em ácidos gordos maioritários dos azeites e óleos utilizados nas amostras de mistura de azeites com óleos de semente.

|                               | C16:0 | C18:0 | C18:1 | C18:2 | C18:3 |
|-------------------------------|-------|-------|-------|-------|-------|
| Azeite virgem extra Cordovil1 | 10,2  | 2,3   | 78,7  | 4,1   | 0,7   |
| Azeite virgem extra Galega1   | 12,6  | 2,3   | 74,3  | 6,8   | 0,5   |
| Azeite virgem extra           | 12,6  | 2,8   | 70,4  | 11,3  | 0,5   |
| Azeite Virgem                 | 12,0  | 2,9   | 72,1  | 9,5   | 0,5   |
| Azeite                        | 12,0  | 2,8   | 72,9  | 8,7   | 0,6   |
| Óleo de amendoim              | 7,9   | 7,1   | 75,9  | 4,5   | 0,6   |
| Óleo de colza                 | 5,4   | 1,4   | 63,9  | 19,5  | 7,4   |
| Óleo de girassol              | 6,5   | 2,8   | 29,3  | 59,0  | 0,0   |
| Óleo de milho                 | 12,4  | 1,2   | 30,9  | 53,5  | 0,7   |
| Óleo de sésamo                | 13,3  | 6,0   | 39,1  | 46,5  | 0,2   |
| Óleo de soja                  | 11,5  | 3,3   | 26,7  | 51,9  | 5,7   |
| Óleo de grão de uva           | 9,4   | 1,7   | 17,3  | 70,8  | 0,2   |
| Azeite refinado               | 11,4  | 3,4   | 76,7  | 5,8   | 0,6   |



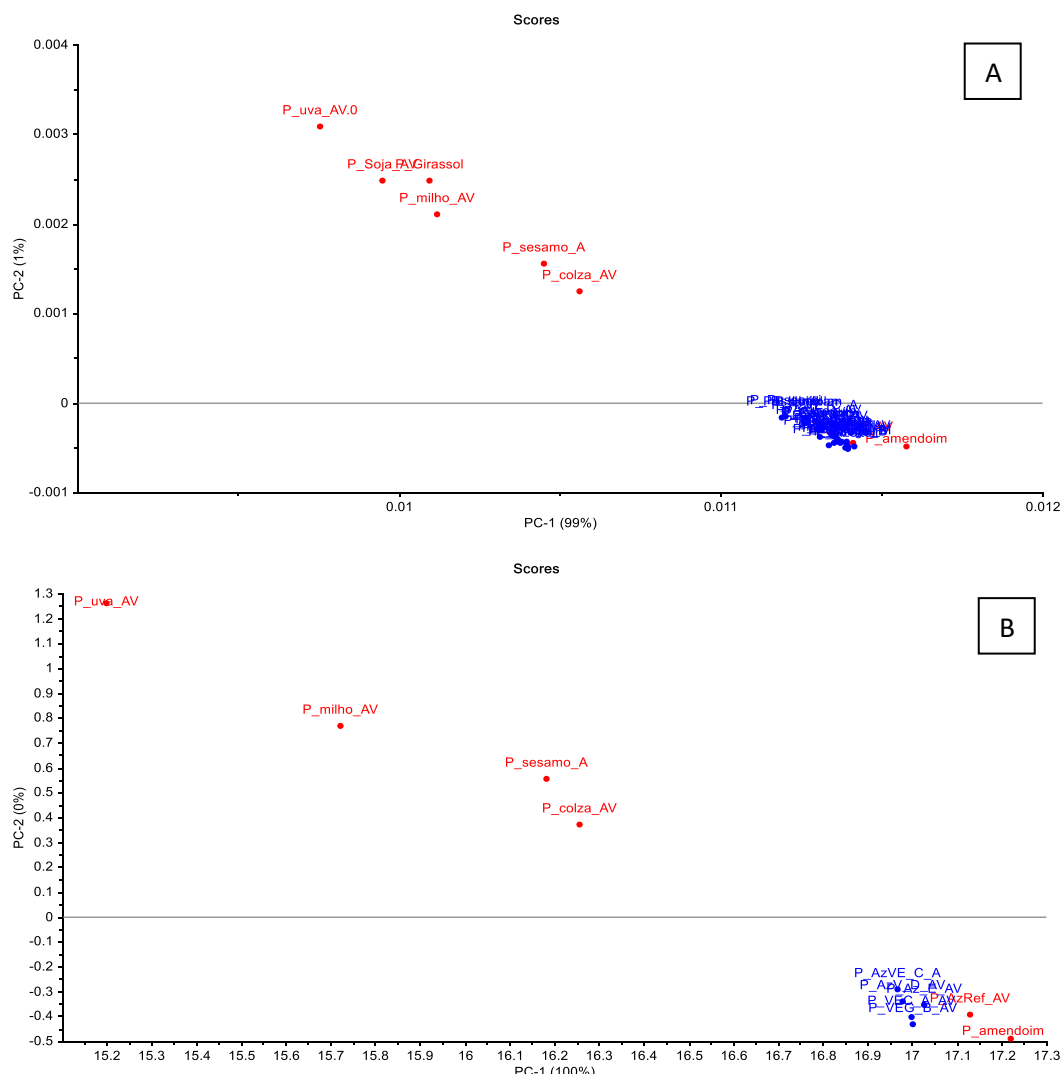


Figura 5 - Projeção dos espectros de azeites (azul) e óleos vegetais (vermelho) (amendoim, colza, milho, sésamo e grão de uva) puros no primeiro plano principal. A — espectros FT-NIR no intervalo de comprimentos de onda de  $6100\text{ cm}^{-1}$  a  $5450\text{ cm}^{-1}$ ; B - espectros no FTIR-ATR, no intervalo de comprimentos de onda de  $3100\text{ cm}^{-1}$ - $2750\text{ cm}^{-1}$  e  $1770\text{ cm}^{-1}$ - $500\text{ cm}^{-1}$ .

Depois de verificado a diferenciação entre as amostras puras de azeites e as amostras puras de óleos de semente, analisaram-se as amostras preparadas de mistura de azeites virgens com um óleo de semente.

Verifica-se que da análise por FT-NIR, as amostras adulteradas com óleo de amendoim afastam-se cada vez mais das amostras de azeites virgens em função da concentração de óleo (figura 6). Nas análises por FTIR-ATR, esta distribuição não é tão evidente (figura 7). Este comportamento verifica-se para todas as amostras analisadas pelo que podemos concluir que a análise por FT-NIR é a mais adequada para este estudo. Em face destes resultados as amostras seguintes foram apenas analisadas por FT-NIR.

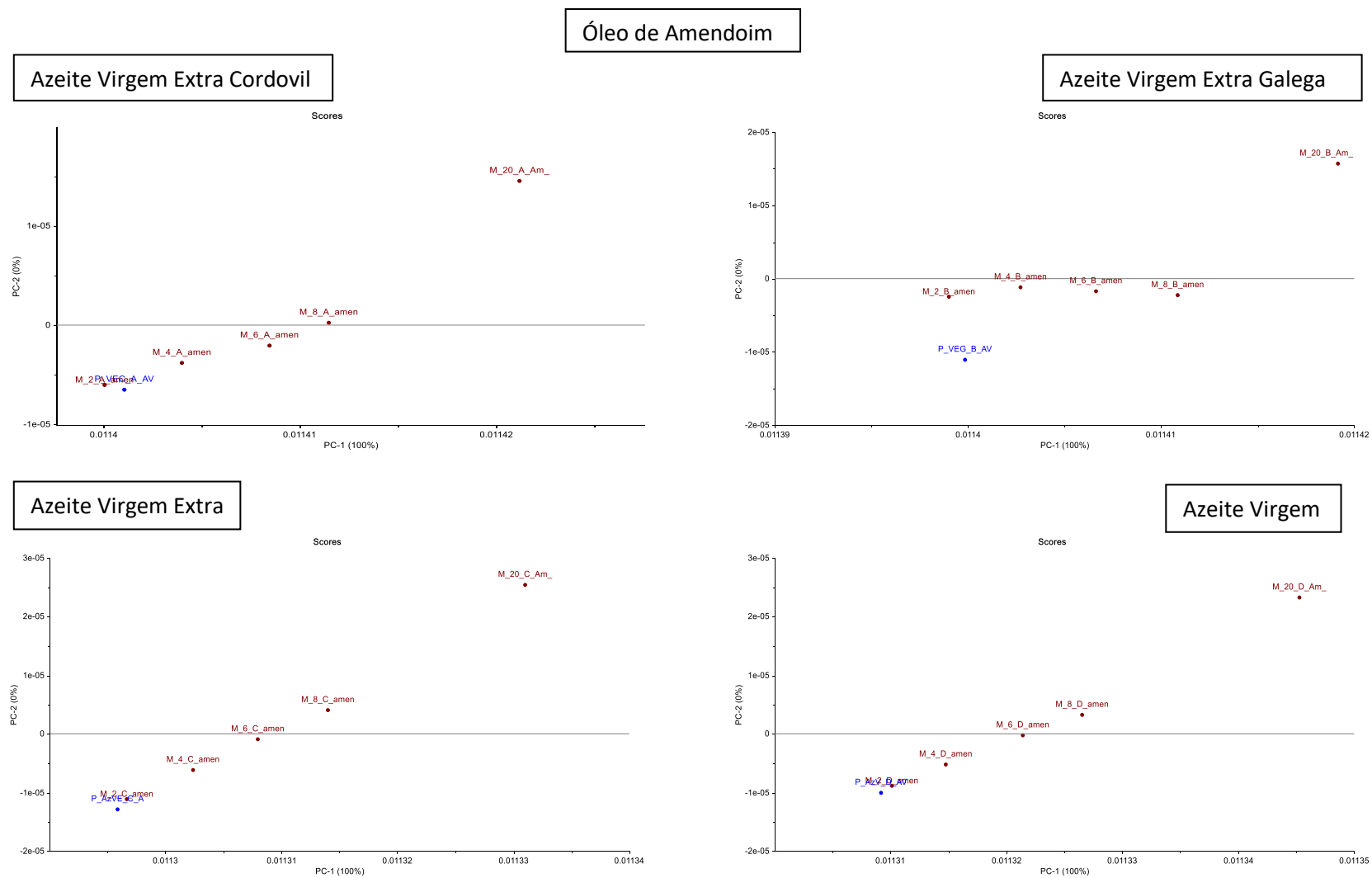


Figura 6– Projeção dos espectros de azeite virgem (azul) e azeite virgem adulterado com óleo de amendoim (castanho) em concentrações de 2, 4, 6, 8 e 20% (m/m) no primeiro plano principal. Espectros FT-NIR no intervalo de comprimentos de onda de  $6100\text{cm}^{-1}$  a  $5450\text{cm}^{-1}$ .

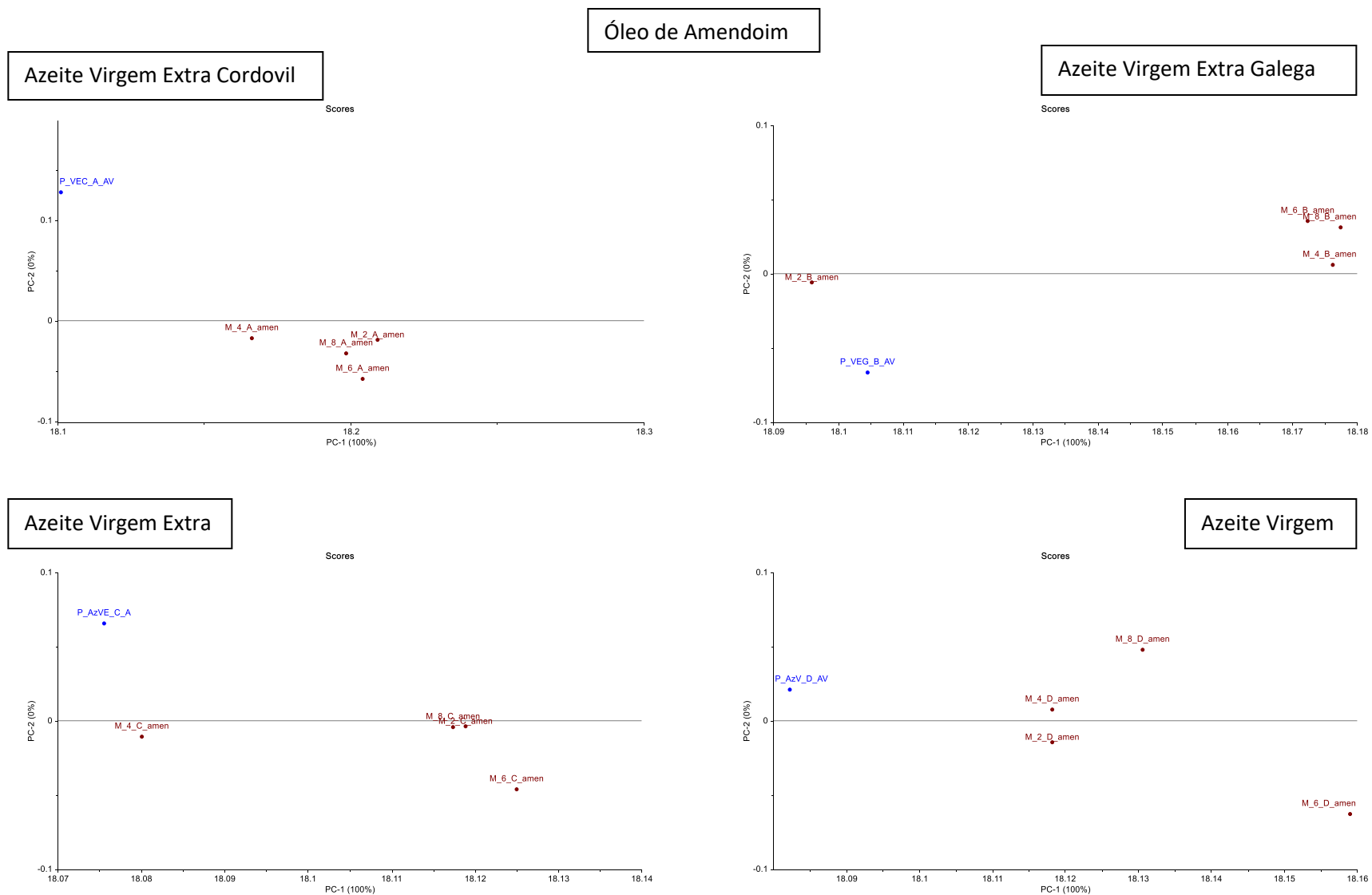


Figura 7– Projeção dos espectros de azeite virgem (azul) e azeite virgem adulterado com óleo de amendoim (castanho) em concentrações de 2, 4, 6, 8 e 20% (m/m) no primeiro plano principal. Espectros FTIR-ATR, no intervalo de comprimentos de onda de  $3100\text{cm}^{-1}$ - $2750\text{cm}^{-1}$  e  $1770\text{cm}^{-1}$ - $500\text{cm}^{-1}$ .

As figuras 8 a 14 mostram as projeções das amostras de azeites virgens adulteradas com óleo de colza, girassol, milho, sésamo, soja, grão de uva e azeite refinado, respetivamente. O comportamento é semelhante ao do observado para os azeites virgens adulterados com óleo de amendoim (figura 6) com exceção dos azeites virgens adulterados com azeite refinado cuja distribuição das adulterações não é tão clara.

Como se pode verificar nas figuras correspondentes a adulterações de azeites virgens com a adição de óleo de colza, óleo de girassol, óleo de soja e óleo de grão de uva (figura 8, 9, 12 e 13 respetivamente) é possível detetar a presença de óleo adulterante partir de concentrações iguais ou superiores a 2%. No caso da adulteração de azeites virgens pela adição de óleo de amendoim (figura 6) o limite de deteção de adulterações é de 4%.

As amostras adulteradas com óleo de milho (figura 10) e óleo de sésamo (figura 11) apresentam algumas inconsistências, porque os resultados dependem do azeite utilizado:

Embora o limite de deteção de adulterações pela adição de óleo de milho nos azeites virgens extra cordovil, azeite virgem extra galega e azeite virgem seja de 2% de concentração de óleo adulterante, algumas amostras não apresentam a distribuição esperada:

- A amostra de azeite virgem extra cordovil adulterada com 8% de óleo de milho está entre a amostra de 4 e 6% de óleo adulterante;
- A amostra de azeite virgem extra galega adulterada com 6% de óleo de milho não se diferencia da amostra pura de azeite virgem extra galega;
- A amostra de azeite virgem adulterada com 4 % de óleo de milho não se diferencia da amostra pura de azeite virgem.

No caso das amostras de azeite virgem extra adulteradas com óleo de milho, o limite de deteção de adulterações é igual ou superior a 6% de concentração de óleo adulterante

No caso das adulterações de azeites virgens por adição de óleo de sésamo, o limite de deteção é de 4% de óleo adulterante. No entanto, a distribuição das amostras apresentam algumas inconsistências:

- Azeite virgem extra cordovil – ordem da distribuição das amostras 6, 4, 2 e 8%, sendo possível detetar a amostra com 2% de concentração de adulterante.
- Azeite virgem extra galega e azeite virgem, - amostra de 8% de adulterante está entre a amostra de 4 e 6%.

Existe uma clara separação das amostras adulteradas com azeite refinado mas a sua distribuição nem sempre é de acordo com o grau de adulteração, nomeadamente no azeite virgem extra cordovil e no azeite virgem extra galega cuja amostra de 20% de azeite refinado apresenta distribuição contrária às restantes percentagens de adulteração (2, 4, 6 e 8%). É possível detetar adulterações a partir dos 2% de óleo adulterante (figura 14).

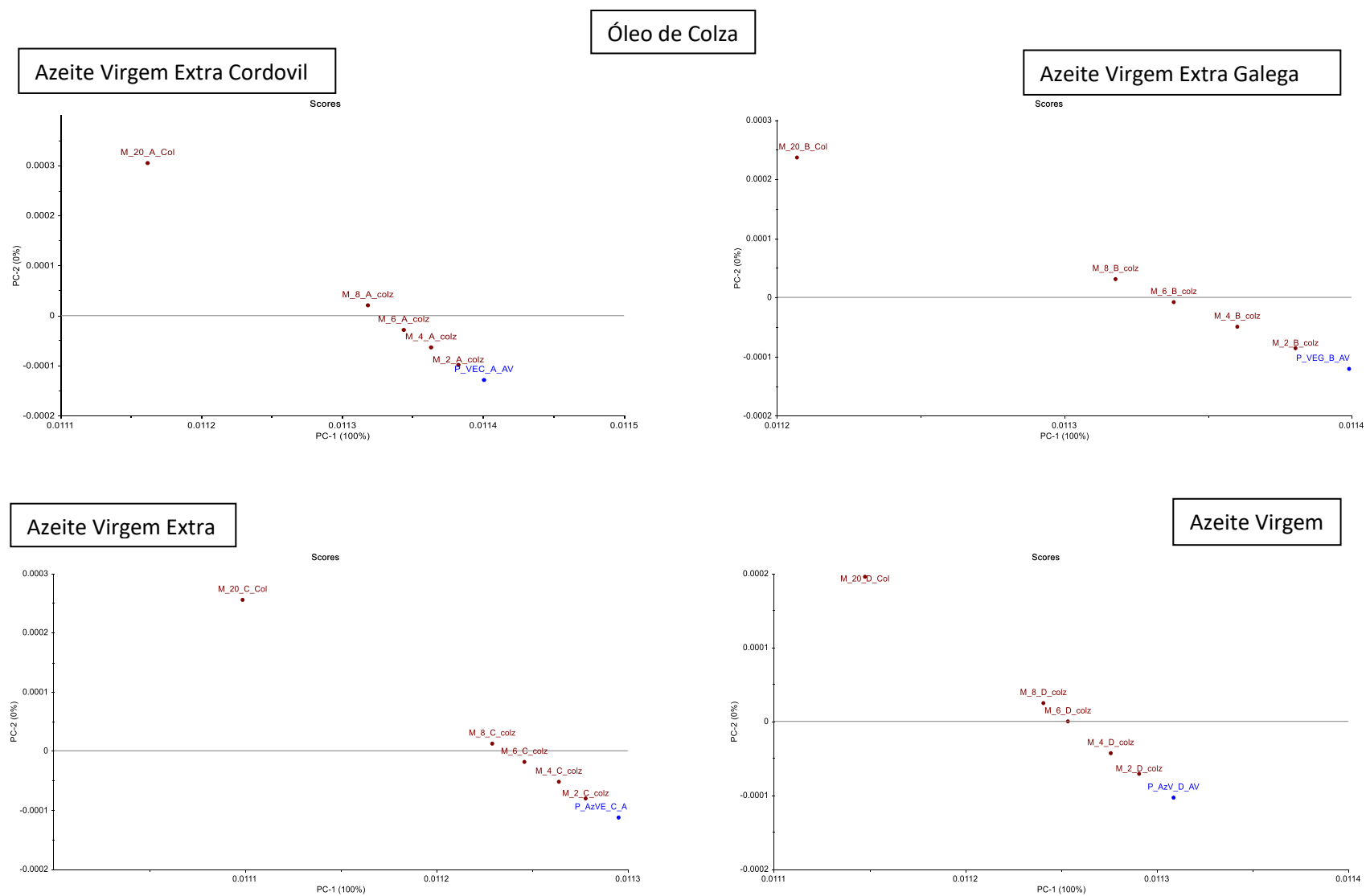


Figura 8– Projeção dos espectros de azeite virgem (azul) e azeite virgem adulterado com óleo de colza (castanho) em concentrações de 2, 4, 6, 8 e 20% (m/m) no primeiro plano principal. Espectros FT-NIR no intervalo de comprimentos de onda de  $6100\text{cm}^{-1}$  a  $5450\text{cm}^{-1}$

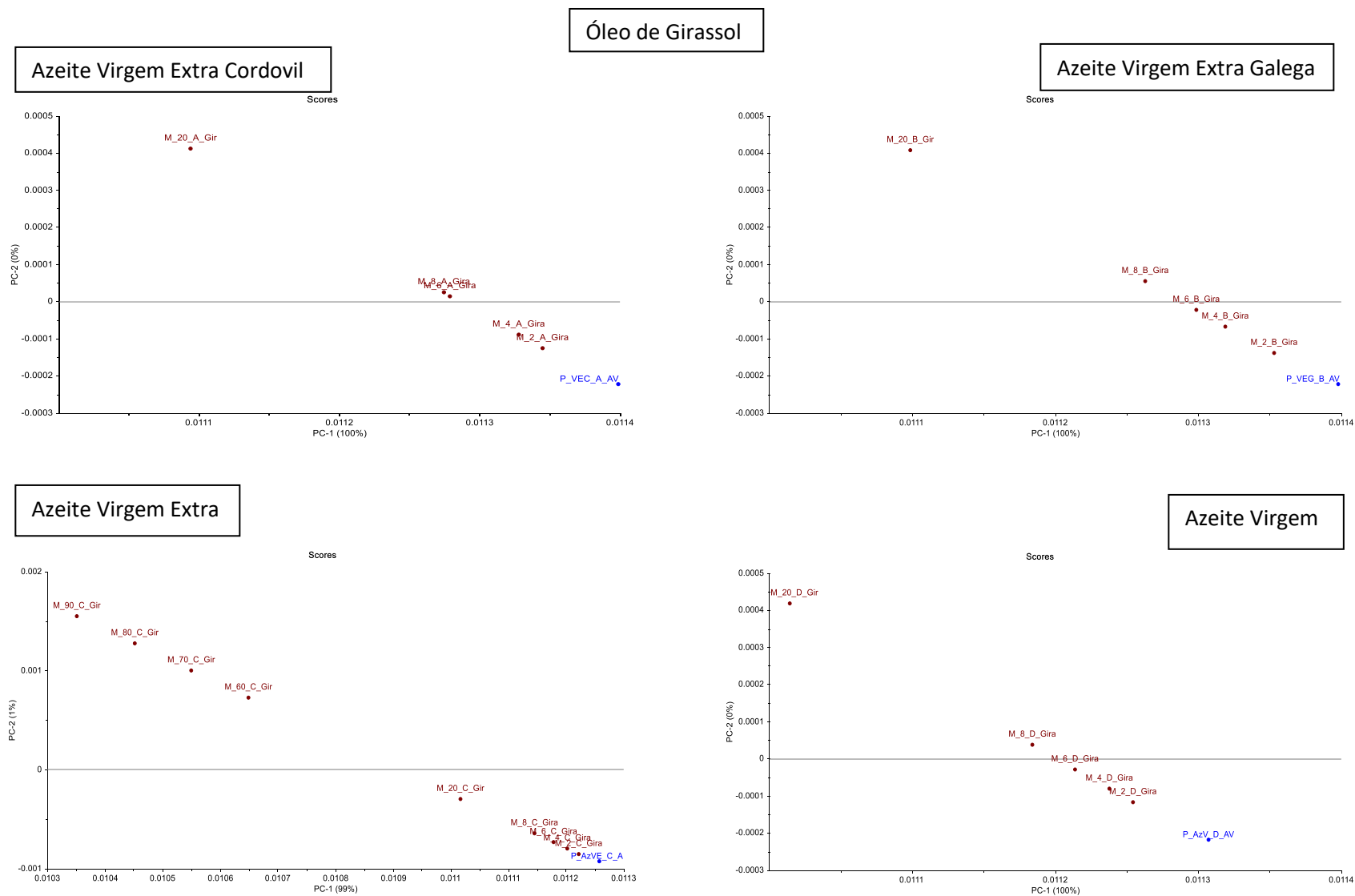


Figura 9- Projeção dos espectros de azeite virgem (azul) e azeite virgem adulterado com óleo de girassol (castanho) em concentrações de 2, 4, 6, 8 e 20% (60, 70, 80 e 90% no azeite virgem extra) (m/m) no primeiro plano principal. Espectros FT-NIR no intervalo de comprimentos de onda de  $6100\text{cm}^{-1}$  a  $5450\text{cm}^{-1}$ .

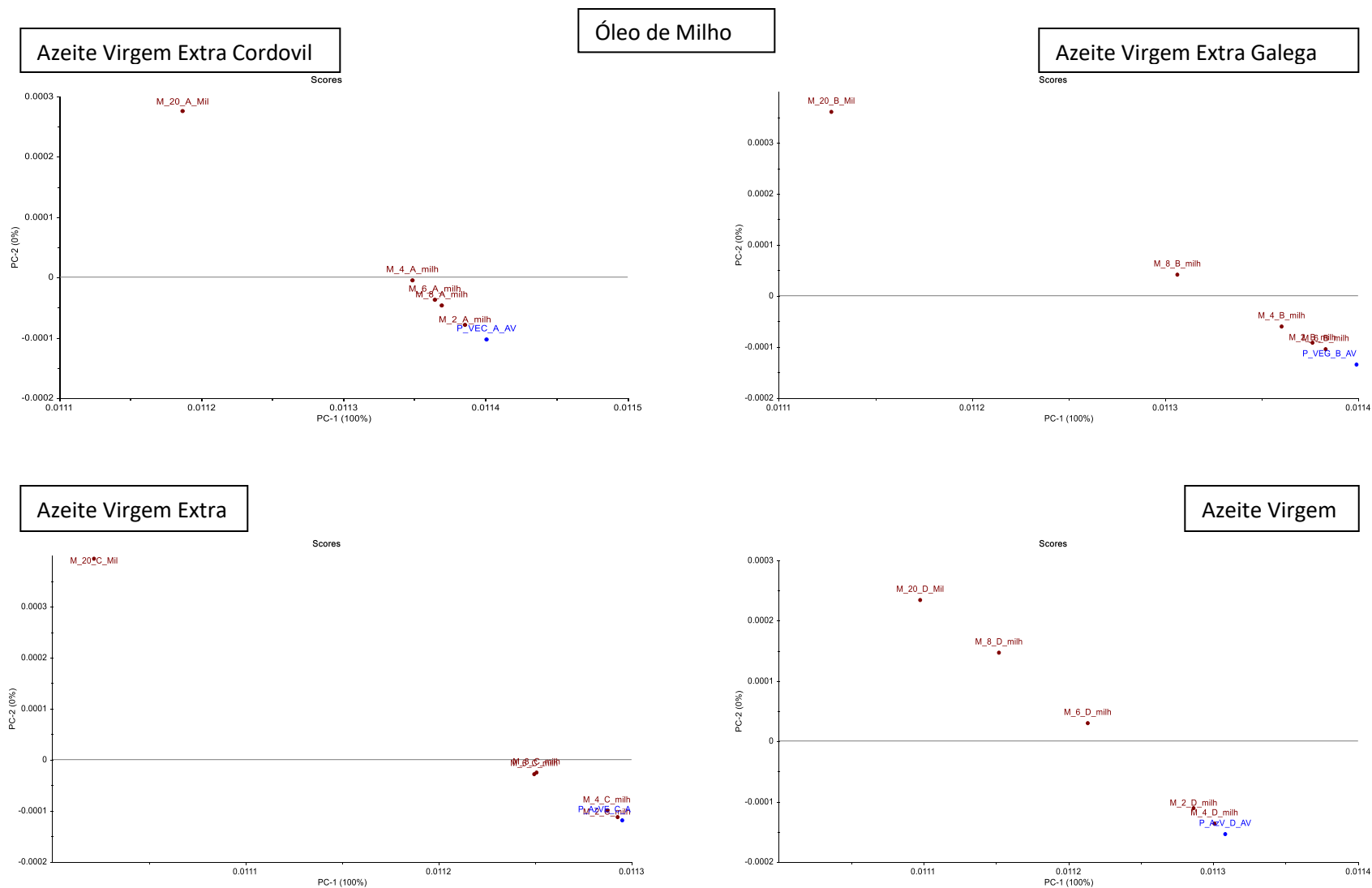


Figura 10- Projeção dos espectros de azeite virgem (azul) e azeite virgem adulterado com óleo de milho (castanho) em concentrações de 2, 4, 6, 8 e 20% (m/m) no primeiro plano principal. Espectros FT-NIR no intervalo de comprimentos de onda de  $6100\text{cm}^{-1}$  a  $5450\text{cm}^{-1}$ .

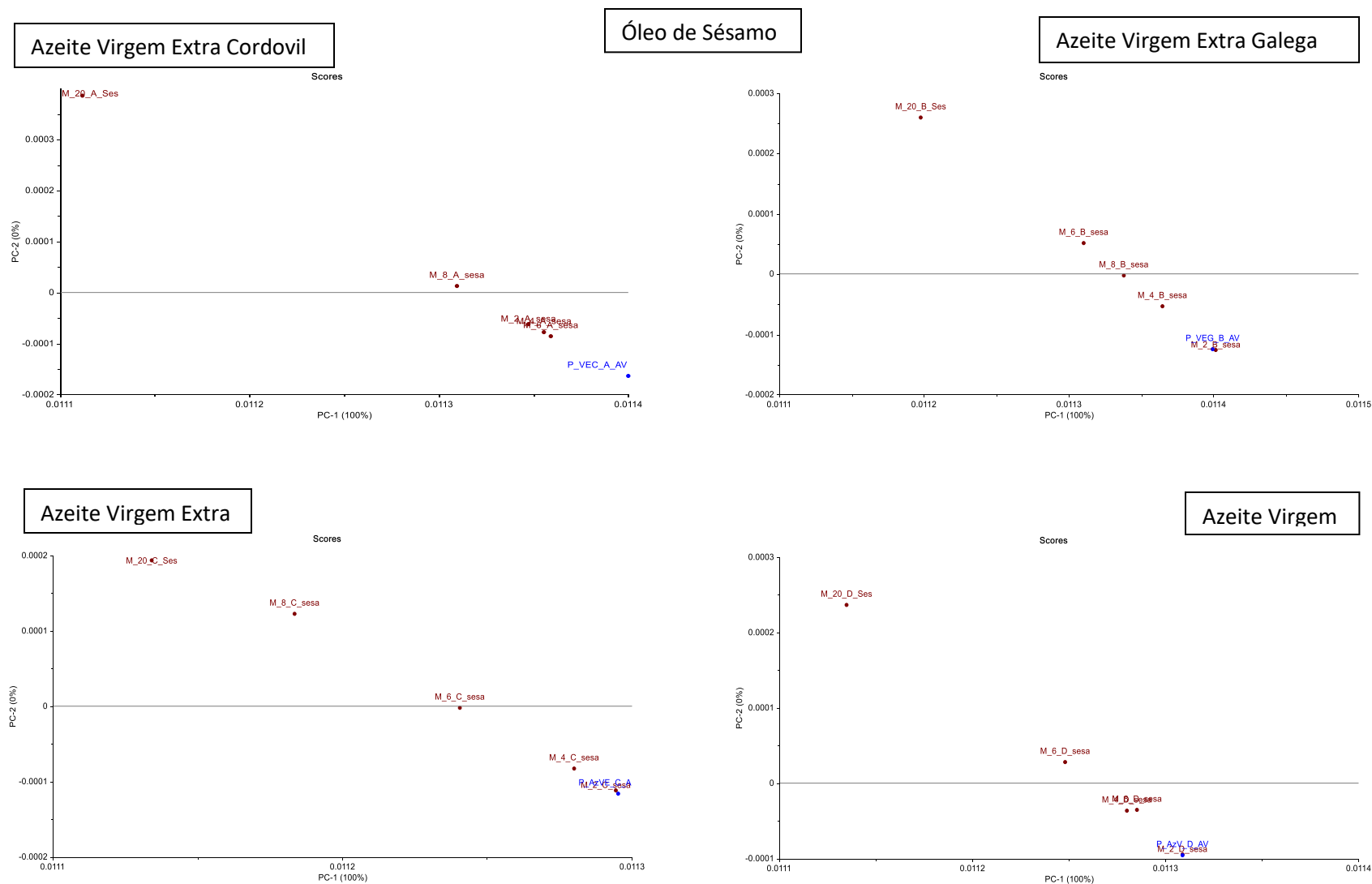
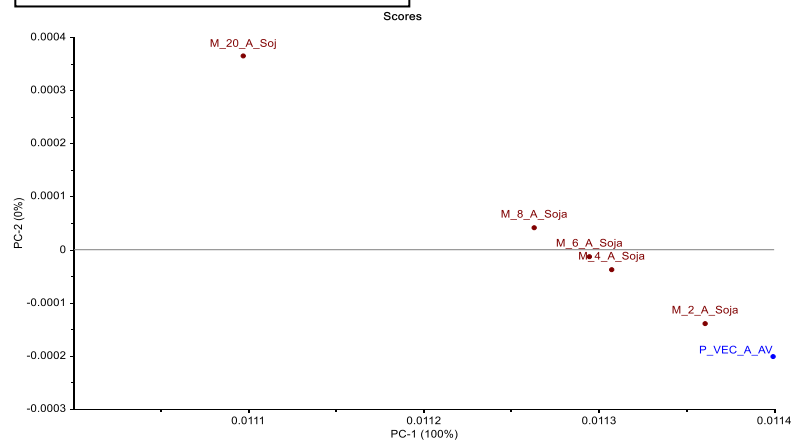


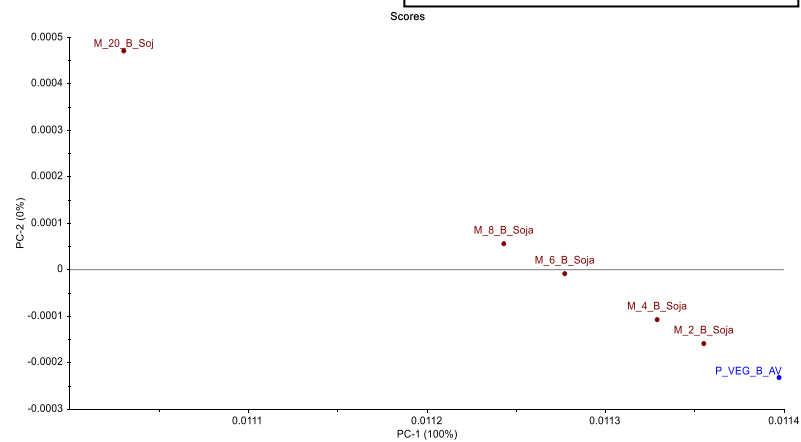
Figura 11- Projeção dos espectros de azeite virgem (azul) e azeite virgem adulterado com óleo de sésamo (castanho) em concentrações de 2, 4, 6, 8 e 20% (m/m) no primeiro plano principal. Espectros FT-NIR no intervalo de comprimentos de onda de  $6100\text{cm}^{-1}$  a  $5450\text{cm}^{-1}$ .



Azeite Virgem Extra Cordovil

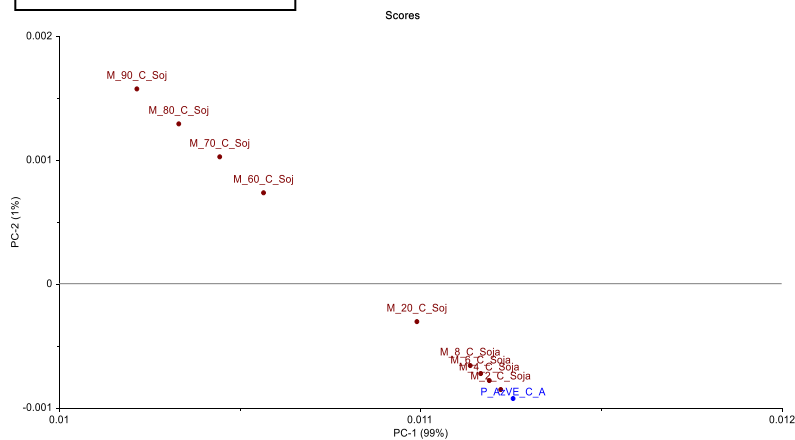


Óleo de Soja



Azeite Virgem Extra Galega

Azeite Virgem Extra



Azeite Virgem

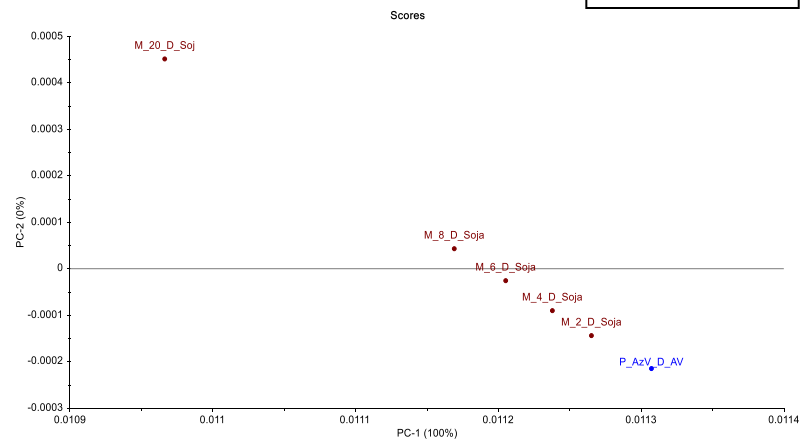
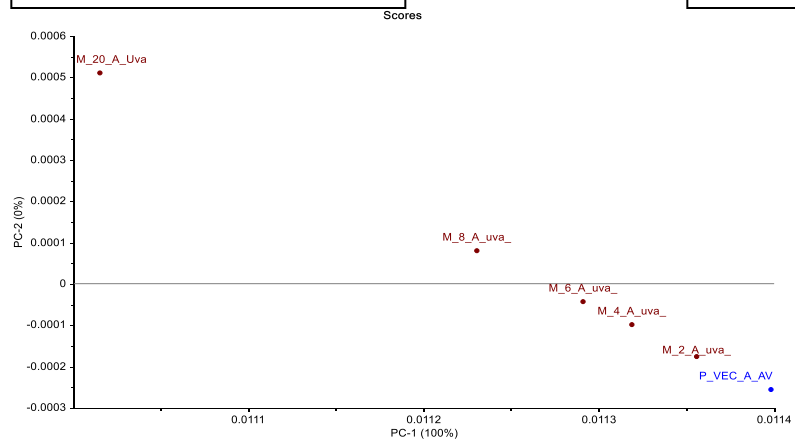
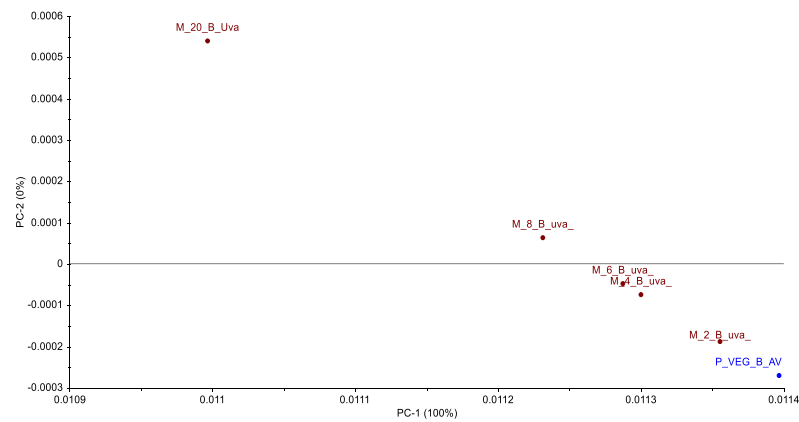


Figura 12- Projeção dos espectros de azeite virgem (azul) e azeite virgem adulterado com óleo de soja (castanho) em concentrações de 2, 4, 6, 8 e 20% (60, 70, 80 e 90% no azeite virgem extra) (m/m) no primeiro plano principal. Espectros FT-NIR no intervalo de comprimentos de onda de  $6100\text{cm}^{-1}$  a  $5450\text{cm}^{-1}$ .

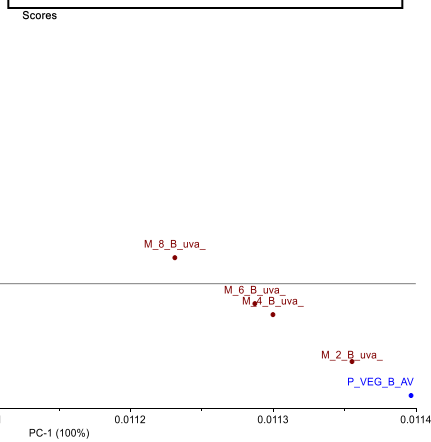
Azeite Virgem Extra Cordovil



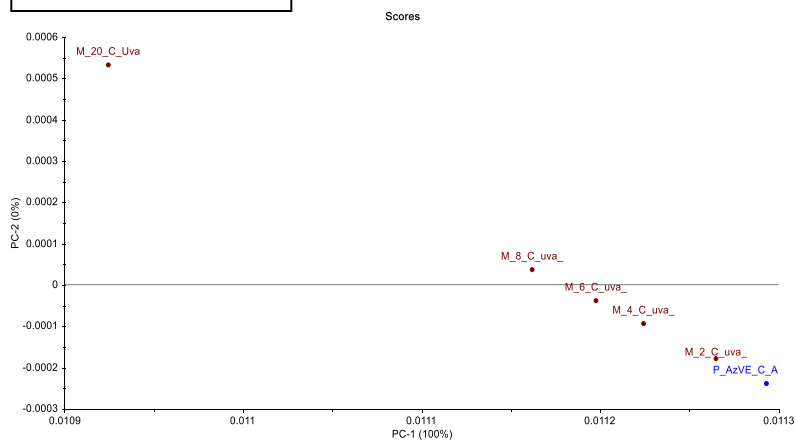
Óleo de grão de uva



Azeite Virgem Extra Galega



Azeite Virgem Extra



Azeite Virgem

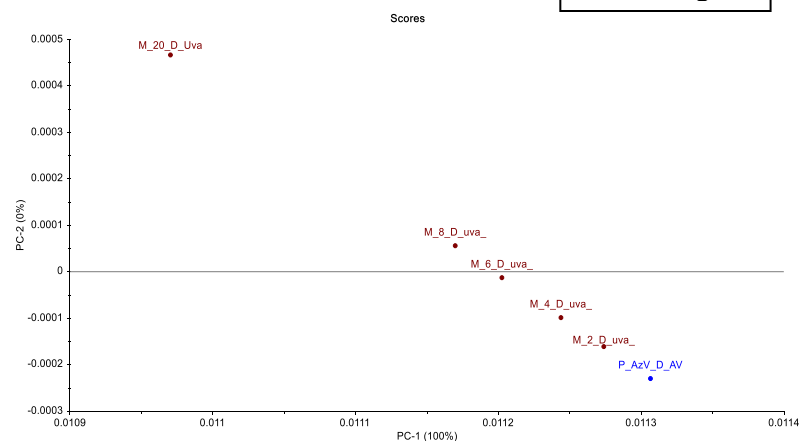


Figura 13- Projeção dos espectros de azeite virgem (azul) e azeite virgem adulterado com óleo de grão de uva (castanho) em concentrações de 2, 4, 6, 8 e 20% (m/m) no primeiro plano principal. Espectros FT-NIR no intervalo de comprimentos de onda de 6100cm<sup>-1</sup> a 5450cm<sup>-1</sup>.

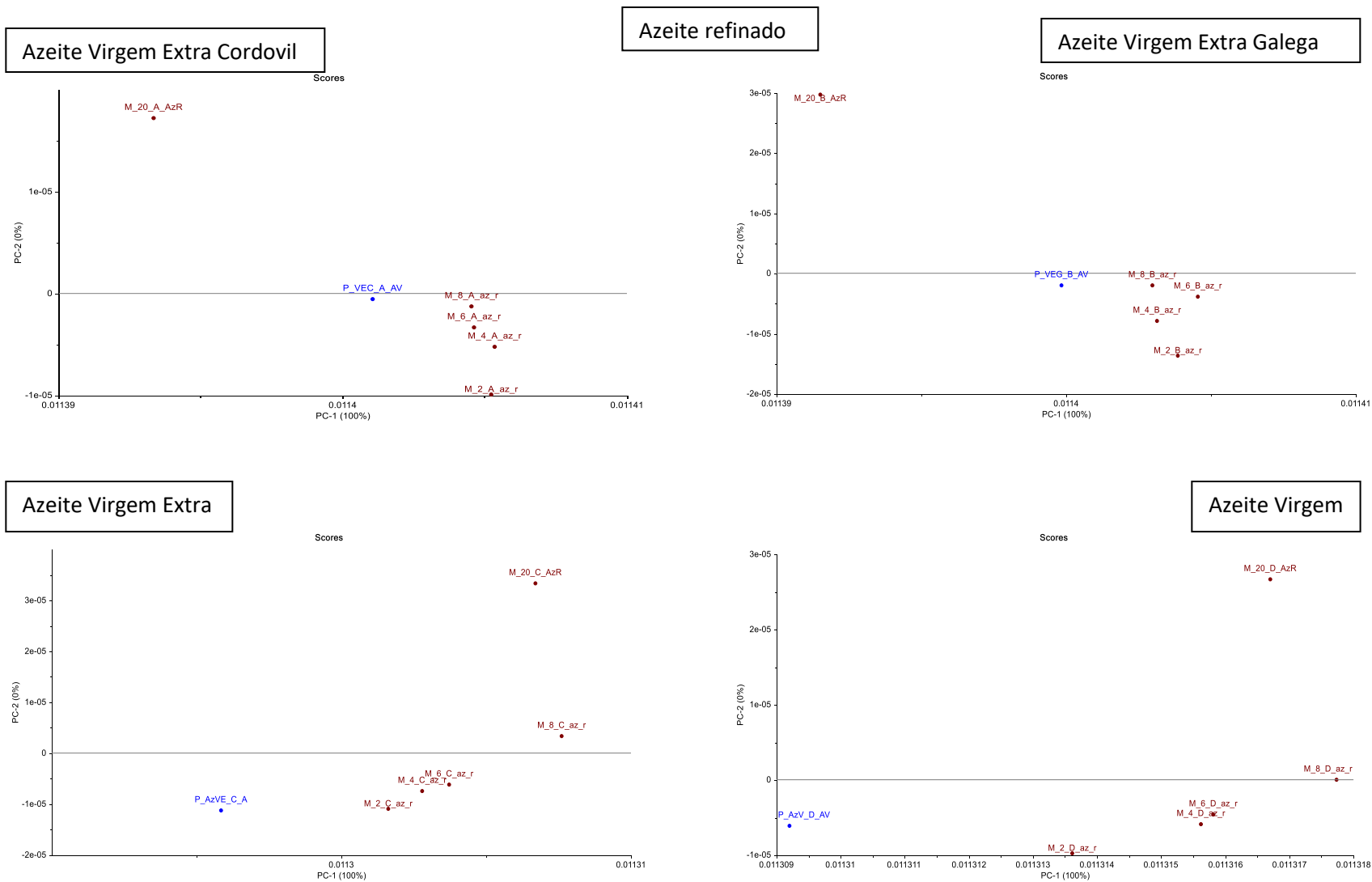


Figura 14- Projeção dos espectros de azeite virgem (azul) e azeite virgem adulterado com azeite refinado (castanho) em concentrações de 2, 4, 6, 8 e 20% (m/m) no primeiro plano principal. Espectros FT-NIR no intervalo de comprimentos de onda de  $6100\text{cm}^{-1}$  a  $5450\text{cm}^{-1}$ .

As figuras 15 e 16 representam as projeções das amostras comerciais de azeite às quais foram adicionadas os diferentes óleos adulterantes nas concentrações de 2, 4, 6, 8 e 20%. Através da sua análise é possível detetar as adulterações a partir de concentrações iguais ou superiores a 2% de óleo adulterante, em todos os tipos de adulterante utilizados, com exceção do óleo de amendoim cuja concentração mínima detetada é os 4% de óleo adulterante. A distribuição das amostras adulteradas com óleos vegetais encontra-se de acordo com o aumento da concentração de óleo adulterante, afastando-se progressivamente do azeite puro.

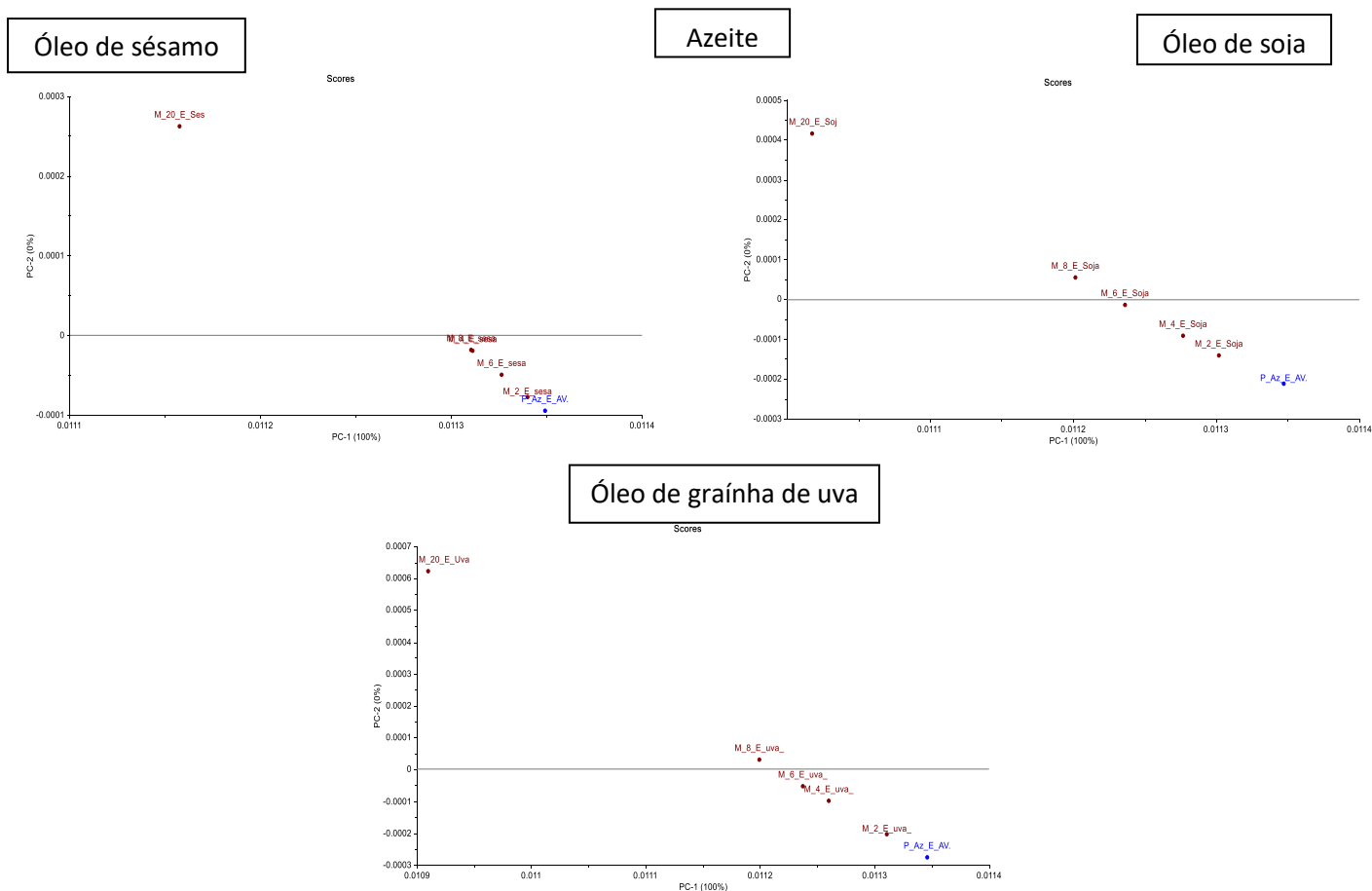


Figura 15- Projeção dos espectros de azeite (azul) e azeite adulterado com óleos vegetais (castanho) (sésamo, soja e grão de uva) em concentrações de 2, 4, 6 e 20% (m/m) no primeiro plano principal. Espectros FT-NIR no intervalo de comprimentos de onda de 6100cm<sup>-1</sup> a 5450cm<sup>-1</sup>.

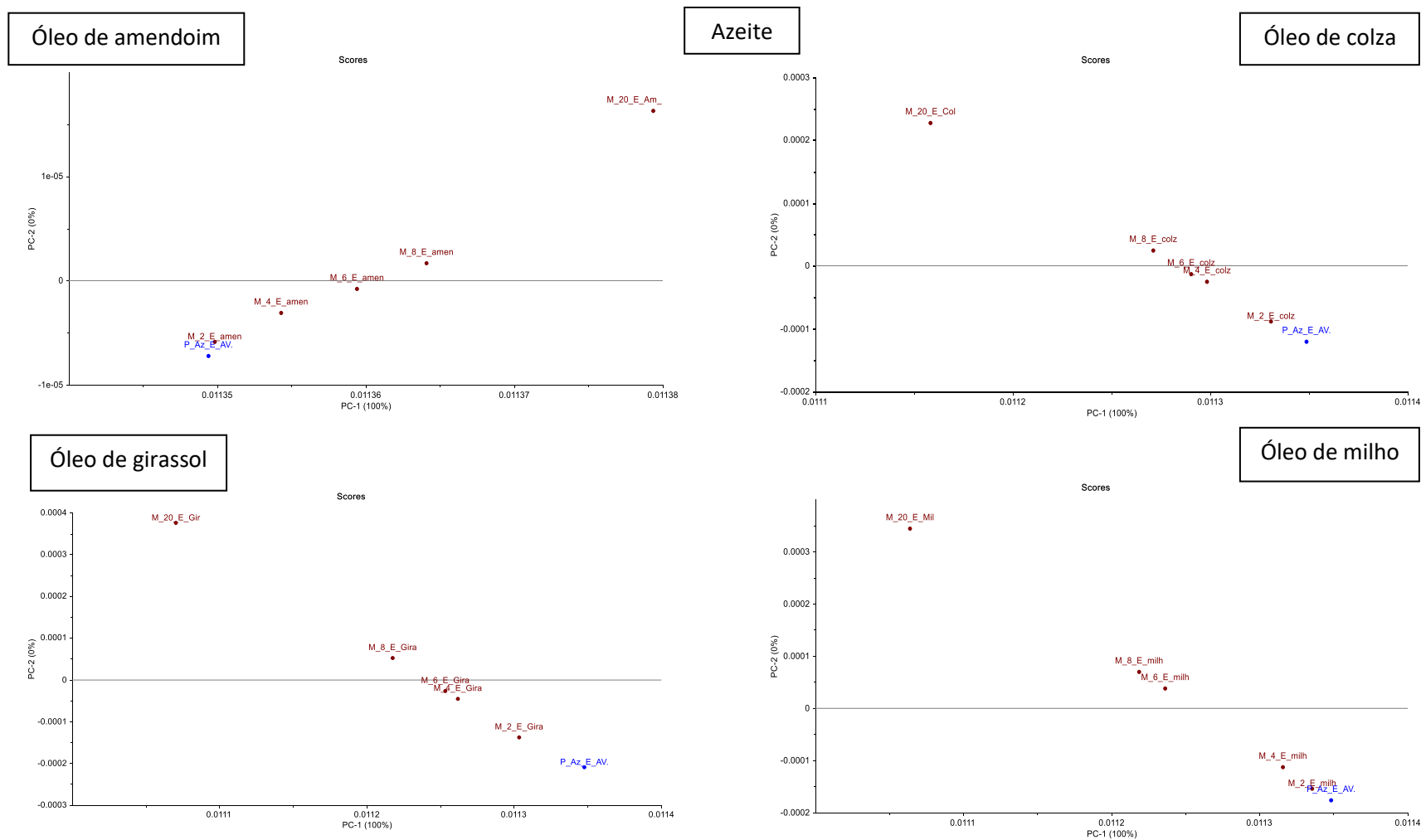


Figura 16- Projeção dos espectros de azeite (azul) e azeite adulterado com óleos vegetais (castanho) (amendoim, colza, girassol e milho) em concentrações de 2, 4, 6, 8 e 20% (m/m) no primeiro plano principal. Espectros FT-NIR no intervalo de comprimentos de onda de  $6100\text{cm}^{-1}$  a  $5450\text{cm}^{-1}$ .

#### 4.2 Diferenciação de adulterações de baixas concentrações em 30 azeites virgens

Dada a variabilidade existente na composição em ácidos gordos dos azeites (tabela 1), confirmada na tabela 9, onde é possível ver as diferenças na composição em ácidos gordos dos azeites utilizados neste estudo, pretendemos verificar se existem amostras adulteradas com pequenas concentrações de óleo adulterante que se possam confundir com alguns dos azeites. Assim, nas figuras 17 e 18 encontram-se as projeções de 30 azeites virgens e de cinco azeites adulterados com os diferentes óleos em concentrações de 2, 4, 6, 8 e 20% de óleo adulterante (figura 17 – óleo de amendoim, colza, girassol e milho; figura 18 – óleo de sésamo, soja, grão de uva e azeite refinado).

Analisando as figuras 17 e 18 verifica-se que as amostras adulteradas com óleo de amendoim e azeite refinado, não são distinguíveis dos diferentes tipos de azeites virgens. Analisando a informação do Codex Standard para azeites (tabela 1), a diferença entre azeites virgens e azeites refinados está apenas na concentração de ácidos gordos trans que não foram analisados nestas amostras. Se analisarmos a composição em ácidos gordos do azeite refinado e dos azeites virgens utilizados neste estudo (tabela 9), verificamos que o azeite refinado não difere significativamente dos restantes azeites. Adicionalmente, o azeite refinado já se encontrava aglomerado com os restantes azeites (figura 5), pelo que estes resultados são os esperados.

O óleo de amendoim é o óleo que mais se assemelha aos azeites em relação à sua composição em ácidos gordos (tabela 9). Por esta razão, é expectável que pequenas concentrações de adulterações de azeites virgens com óleo de amendoim, não alterem a composição da mistura de forma que esta não se destaque das amostras de azeite.

As amostras adulteradas com os óleos de colza, girassol, milho, sésamo, soja e grão de uva, com concentrações iguais ou superiores a 20%, facilmente se distinguem dos azeites virgens analisados (figura 17 e 18), salvo três exceções (azeite virgem extra galega adulterado com 20% de óleo de colza, azeite virgem extra galega adulterado com 20% de óleo de sésamo e azeite virgem extra cordovil adulterado com 20% de óleo de milho) que se podem confundir com azeite virgem extra monovarietal passadeira. Este tipo de azeite virgem extra monovarietal é o que mais se diferencia dos restantes azeites virgens extra, daí se não se destacar das três amostras acima referidas.

Em certos casos, amostras com concentrações iguais ou superiores a 6 e 8% de óleo adulterante, já se diferenciam dos azeites virgens:

- Azeite virgem extra adulterado com 6% de óleo de soja;
- Azeite virgem adulterado com 6% de grão de uva;
- Azeite virgem extra e azeite virgem adulterado com 8% óleo de girassol;
- Azeite virgem adulterado com 8% óleo de milho;
- Azeite virgem adulterado com 8% óleo de soja;
- Azeite virgem extra adulterado com 8% óleo de grão de uva.

No entanto, concentrações entre os 2 e os 6% não são detetáveis nos diferentes azeites virgens.

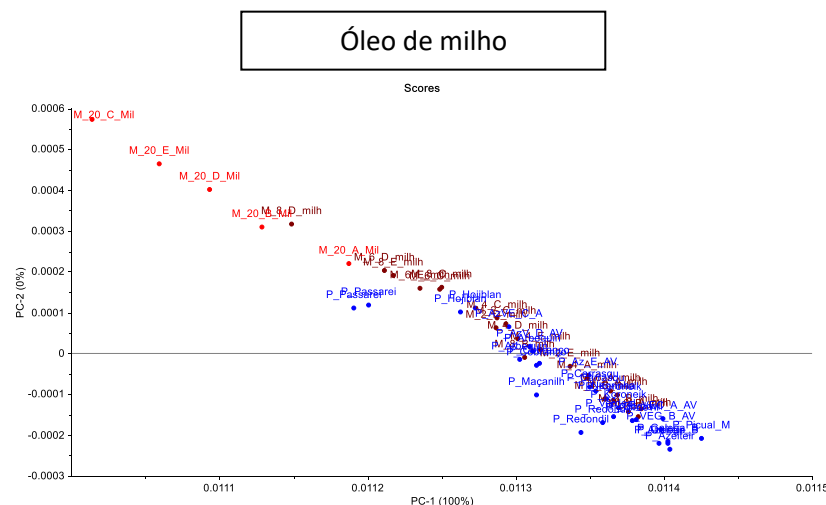
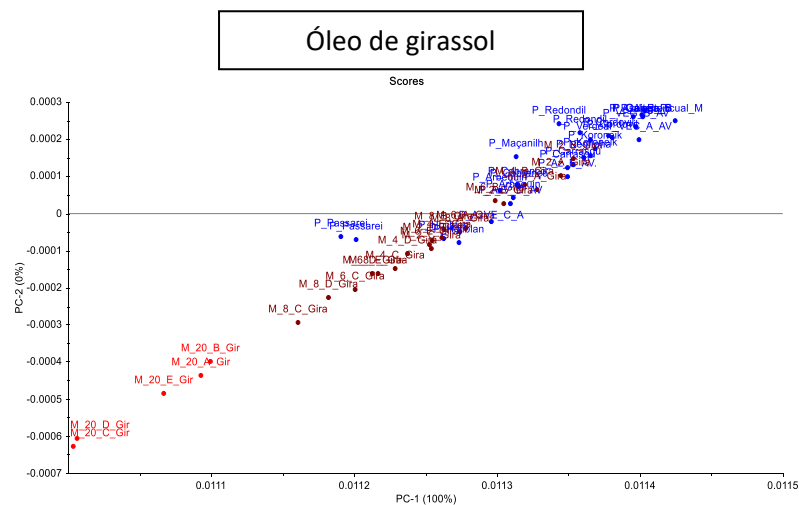
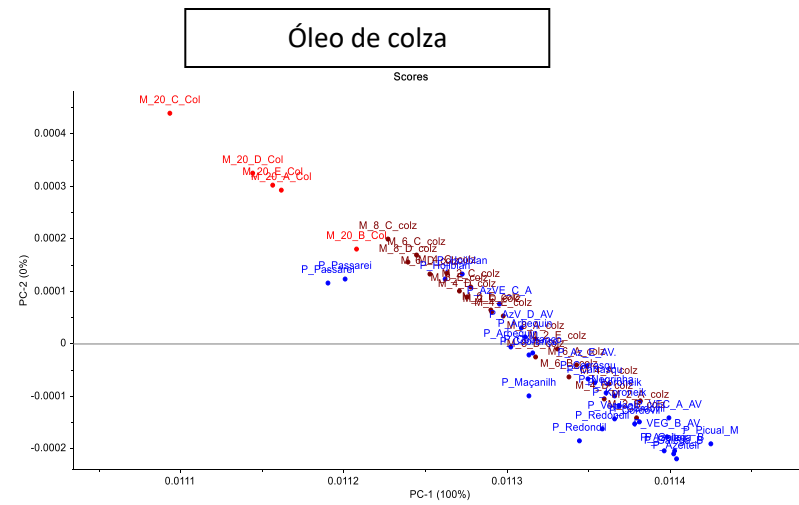
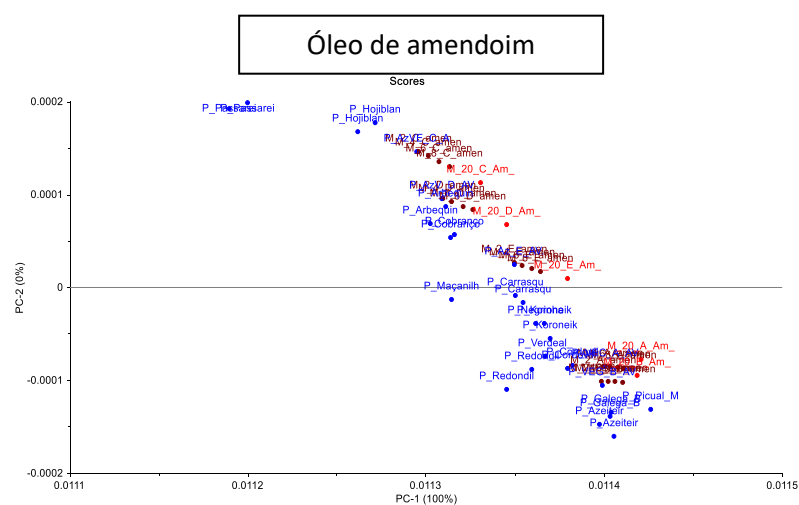


Figura 17- Projeção dos espectros de 30 azeites virgens (azul) e de azeites adulterados com óleos vegetais (amendoim, colza, girassol e milho) em concentrações de 2, 4, 6, 8 (castanho) e 20% (vermelho) (m/m) no primeiro plano principal. Espectros FT-NIR no intervalo de comprimentos de onda de  $6100\text{cm}^{-1}$  a  $5450\text{cm}^{-1}$ .

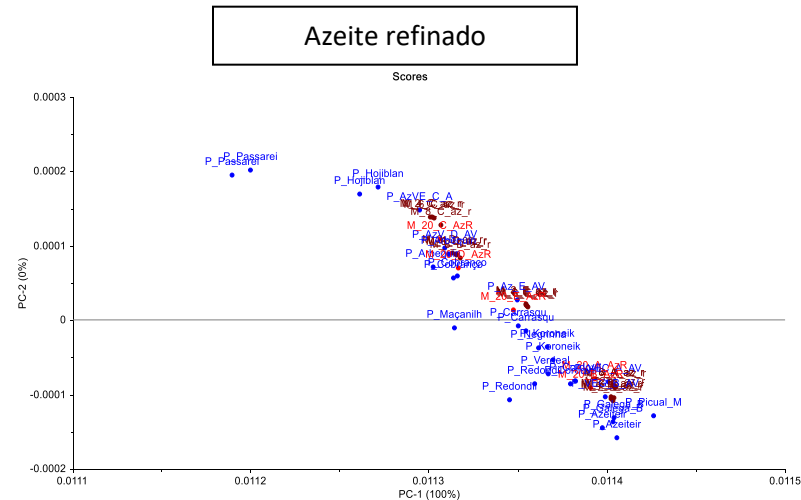
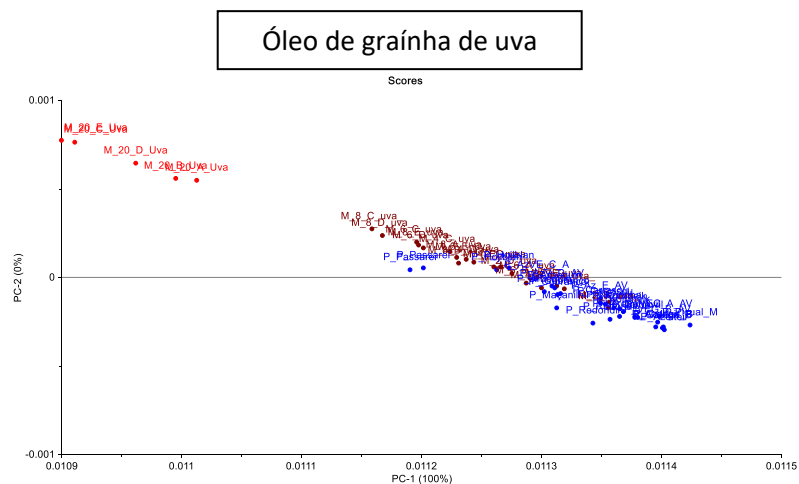
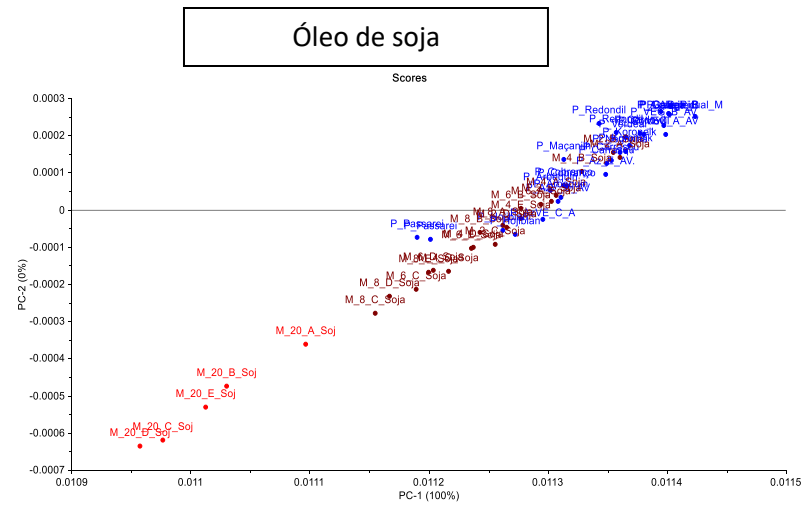
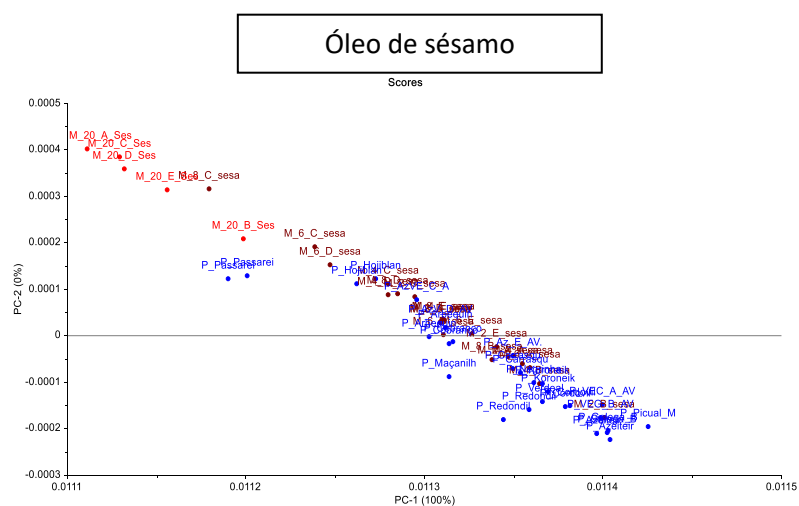


Figura 18- Projeção dos espectros de 30 azeites virgens (azul) e de azeites adulterados com óleos vegetais (sésamo, soja, grão de uva e azeite refinado) em concentrações de 2, 4, 6, 8 (castanho) e 20% (vermelho) (m/m) no primeiro plano principal. Espectros FT-NIR no intervalo de comprimentos de onda de  $6100\text{cm}^{-1}$  a  $5450\text{cm}^{-1}$ .



### 4.3 Validação das técnicas na identificação de azeites adulterados com óleos desconhecidos

Após verificada a viabilidade de utilização das técnicas MPA-FTIR na identificação inequívoca de adulterações de azeites virgens pela adição de óleos de semente (óleo de colza, óleo de girassol, óleo de sésamo, óleo de soja e óleo de grão de uva) em concentrações superiores a 20% de um modo geral, procedeu-se à validação do uso destas técnicas para detetar adulterações cujos óleos adulterantes eram desconhecidos bem como o seu grau de adulteração.

Com base na composição em ácidos gordos das amostras adulteradas com óleos desconhecidos, suspeitava-se que a amostra M3 era azeite adulterado com óleo de girassol e as amostras M1, M2, M4, M5, M6 e M7 azeites com óleo de soja. Assim, para além das amostras de azeite virgem adulteradas com óleo de girassol, em concentrações até 20%, prepararam-se amostras de azeite virgem extra adulterado com 60, 70, 80 e 90% de óleo de girassol. Projetaram-se os espectros dessas amostras com as amostras preparadas de azeite virgem extra adulterado com o óleo correspondente em concentrações conhecida.

Analisando a figura 19, é possível verificar que a amostra M3 parece seguir a distribuição das amostras de azeite virgem extra adulterado com óleo de girassol. Podemos ainda estimar que o grau de adulteração foi superior a 8% dada a localização da amostra M3.

Seguiu-se o mesmo procedimento para as amostras adulteradas possivelmente com óleo de soja. Na figura 20 estão representadas as amostras adulteradas com óleo desconhecido suspeito de ser óleo de soja. Observando a figura, é possível ver que as amostras estão enquadradas com a distribuição das amostras adulteradas com óleo de soja em concentrações conhecidas. Dada a localização destas amostras é possível estimar que o grau de adulteração das amostras M2, M6 e M7 está entre os 80 e os 90% enquanto as amostras M1, M4 e M5 apresentam um grau de adulteração superior a 90%.

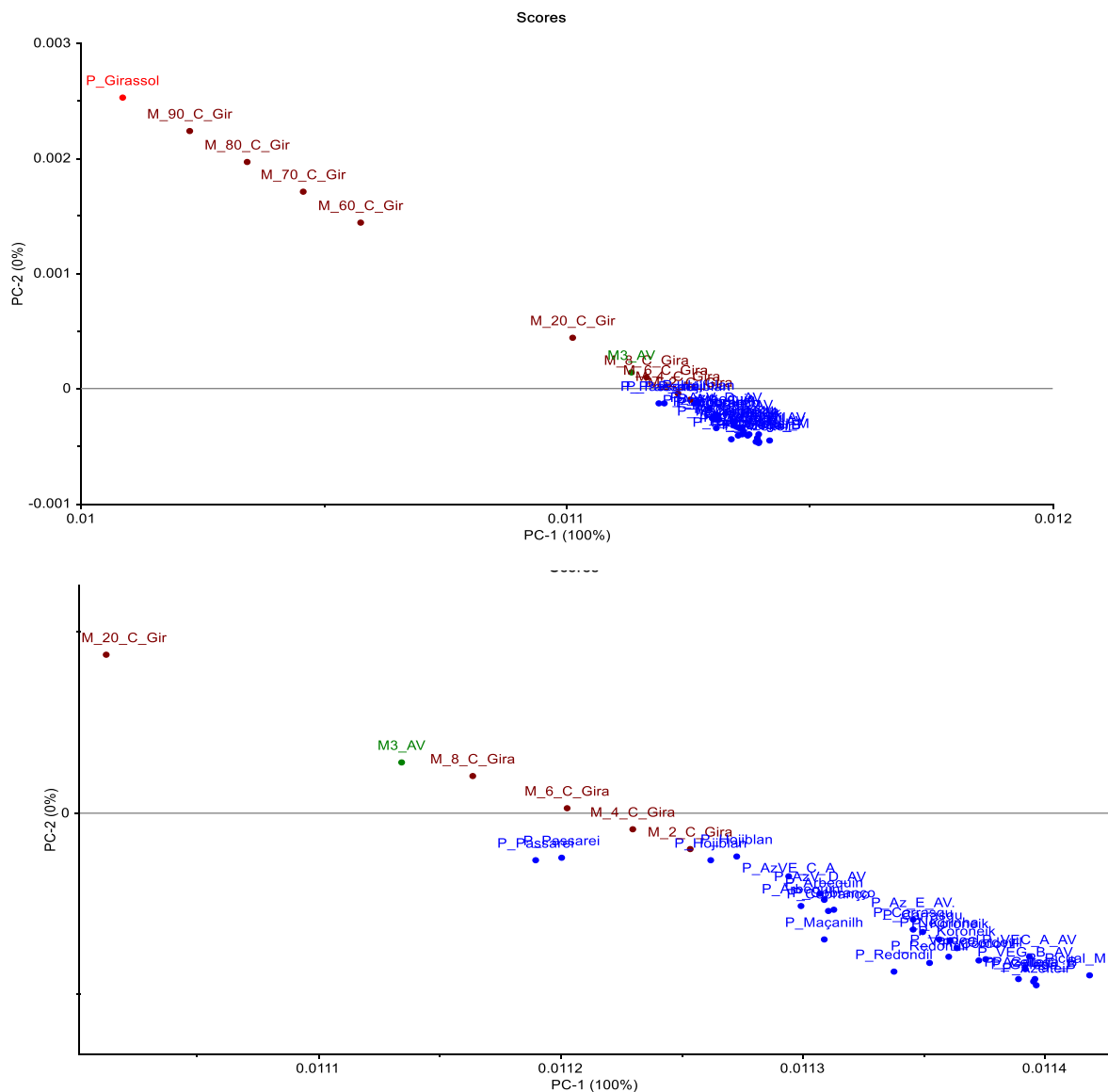


Figura 19— Projeção dos espectros de uma amostra de azeite virgem adulterado com óleo desconhecido (verde), de 30 azeites virgens (azul), de óleo de girassol puro (vermelho) e de azeite virgem extra adulterado com óleo de girassol em concentrações de 2, 4, 6, 8, 20, 60, 70, 80 e 90% (m/m) no primeiro plano principal. Espectros FT-NIR no intervalo de comprimentos de onda de  $6100\text{cm}^{-1}$  a  $5450\text{cm}^{-1}$ .

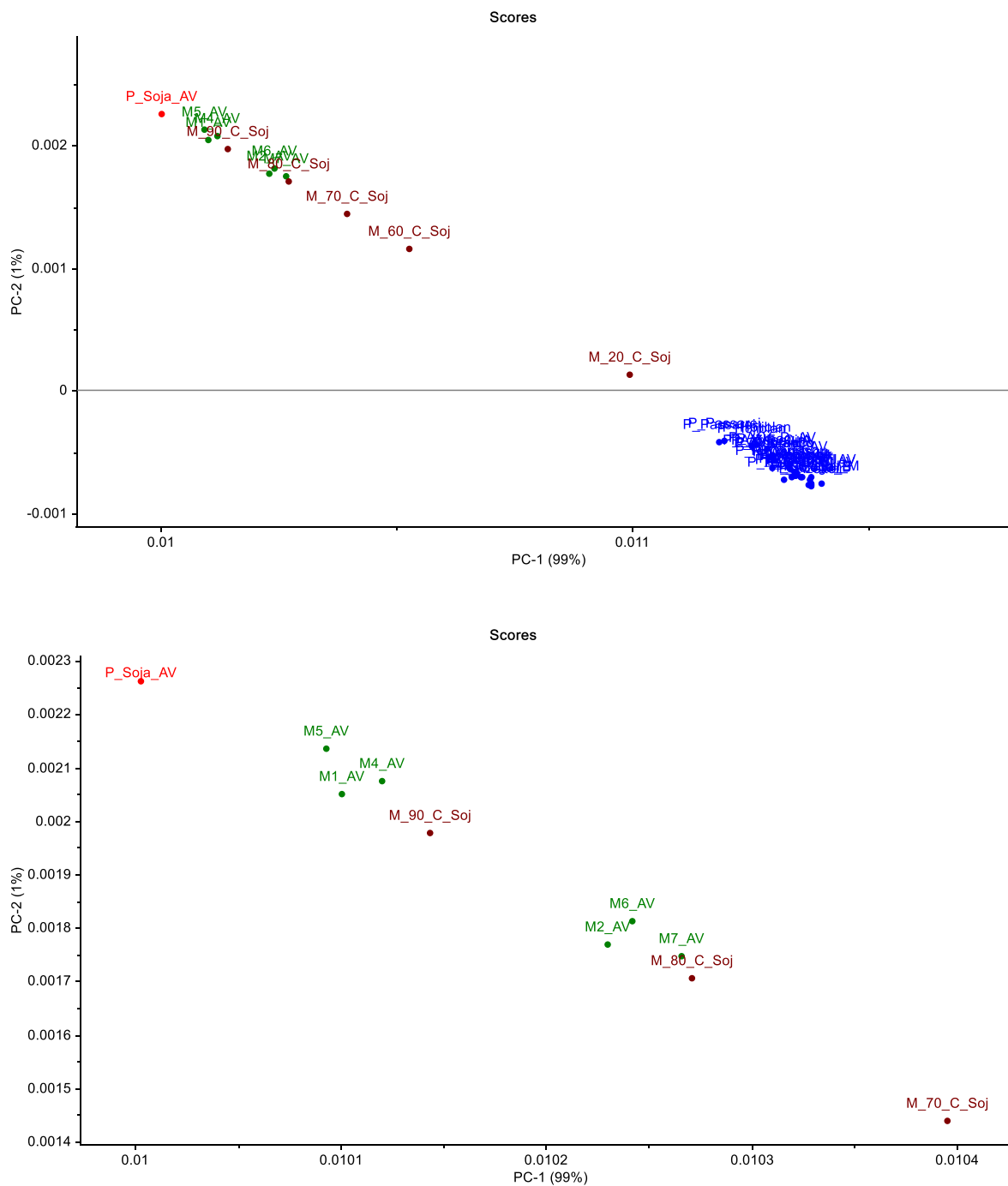


Figura 20- Projeção dos espectros de seis amostras de azeite virgem adulterado com óleo desconhecido (verde), de 30 azeites virgens (azul), de óleo de soja puro (vermelho) e de azeite virgem extra adulterado com óleo de soja em concentrações de 2, 4, 6, 8, 20, 60, 70, 80 e 90% (castanho) (m/m) no primeiro plano principal. Espectros FT-NIR no intervalo de comprimentos de onda de  $6100\text{cm}^{-1}$  a  $5450\text{cm}^{-1}$ .

Figura 20

## 5 Conclusões

As técnicas FT-NIR e FTIR-ATR, em especial FT-NIR, revelaram ser técnicas instrumentais, rápidas e não destrutivas adequadas à deteção de adulterações de azeites com óleos de semente insaturados, mais concretamente óleo de colza, óleo de girassol, óleo de milho, óleo de sésamo, óleo de soja, óleo de grão-de-bico e óleo de uva.

Foi possível detetar e identificar adições superiores a 2-4% de óleos (2% no caso dos óleos de colza, girassol, milho, soja, grão-de-bico e uva e azeite refinado e 4% no caso dos óleos de amendoim e sésamo) em azeites virgens mono e multivarietais. Contudo, a deteção de adulterações em baixas concentrações só é possível se se tiver o perfil do azeite inicial. Dada a grande variabilidade dos azeites, as adulterações com óleos de semente só são detetáveis se estes óleos estiverem em concentrações elevadas (superiores a 20%).

Sem o perfil do azeite inicial, as adulterações de azeite virgem com azeite refinado e óleo de amendoim não são facilmente detetados por FT-NIR, mesmo em grandes concentrações de adulterante.

As adulterações de azeites com óleos desconhecidos e em concentrações desconhecidas foram facilmente identificadas porque apresentavam concentrações de óleo adulterante (soja ou girassol) superiores a 8% de óleo de girassol e 80% de óleo de soja.

## 6 Bibliografia

Abaitua, I. de la Camara, AG. Gelpi, E. Kilbourne, E. Lahoz, C. de la Paz, M. Nemery, B. Philen, R. Soldevilla, L. Terracini, B. (2002) The Spanish toxic oil syndrome 20 years after its onset: a multidisciplinary review of scientific knowledge. *Environ Health Perspect*,110(5):457–464.

AGROemDIA – Fraude no azeite de oliva:700 mil litros são retirados do mercado Disponível em: <https://agroemdia.com.br/2018/05/01/fraude-no-azeite-de-oliva-700-mil-litros-sao-retirados-do-mercado/> Acesso em: 23/07/2019

Amirante, P., Arena, G., Clodoveo, M. L., Dugo, G., Leone, A., Lo Turco, V., Pollicino, D. Tamborrino, A. (2007). Virgin olive oil production from de-stoned pastes: A new technology to improve the shelf life of the product. *Italian J. Food Sci.* 19:116–120.

Baer, I. (2006). *Contribuição para o estudo da degradação oxidativa de azeites virgens provenientes das cultivares Cordovil de Serpa, Galega vulgar e Verdeal alentejana*. Tese de mestrado em Olivicultura, Azeite e Azeitona de mesa. Instituto Superior de Agronomia - Universidade Técnica de Lisboa, Lisboa. 134pp

Baeten, V. and Meurens M. (1996). Detection of Virgin Olive Oil Adulteration by Fourier Transform Raman Spectroscopy. *J. Agric. Food Chem.* 44: 2225-2230

Baréa, B. Barouh, N. Cuq, B. Grand, E. Kaddour, A. e Villeneuve, P. (2006). Near-infrared spectroscopy for the determination of lipid oxidation in cereal food products. *Eur. J. Lipid Sci. Technol.* 108 1037–1046

Bella, L. D.; Bondioli, P.; Fusari, E ; Gasperini, G (2007). Classification of feeding fats by FT-IR spectroscopy - *Eur. J. Lipid Sci. Technol.* 109: 673–681

Berger, M; Calmon, A.; Centis, S; Daydé, J.; Farkas, E; Gotor, A. A.; Labalette, F; (2007). Determination of tocopherols and phytosterols in sunflower seeds by NIR spectrometry. *Eur. J. Lipid Sci. Technol.* 109: 525–530

Bogle, D. (2012) Oils ain't oils in the olive grove. *The Advertiser*. pp. 11-14.

Boskou, D (2006) *Olive oil: chemistry and technology. (Second edition)*

Buchgraber, M. and Ulberth, F. (2000) - Authenticity of fats and oils. *Eur. J. Lipid Sci. Technol.* 102: 687–694.

Büning-Pfaue, H. Kehraus, S. (2001). Application of near infrared spectroscopy (NIRS) in the analysis of frying fats\*. *Eur. J. Lipid Sci. Technol.* 103: 793–797

Buttler, J. (2013) Scientists Pool expertise in Fight Against Fake Olive Oils. Olive Oils Times. Disponível em: <https://www.oliveoilstimes.com/olive-oil-basics/madrid-meeting-olive-oil-authentication> Acesso em: 23/07/2019

Cabo, N. e Guillén, M. (1999). Usefulness of the frequencies of some Fourier transform infrared spectroscopic bands for evaluating the composition of edible oil mixtures. *Fett/Lipid* 101: 71–76

Choung, M. G.; Jang, Y. S.; Kim, K. S. and Park, S. H. - Use of Near-Infrared Spectroscopy for Estimating Fatty Acid Composition in Intact Seeds of Rapeseed – *Research Articles J. Crop Sci. Biotech.* 10 : 15-20

Codex Alimentarius (1981), standard for olive oils and olive pomace oils codex stan 33-1981

Codex stan (1999), codex standard for named vegetable oils codex stan 210-1999

Cunha S, Amaral J, Fernandes J, Oliveira MB (2006). Quantification of tocopherols and tocotrienols in Portuguese olive oils using HPLC with three different detection systems *J. Agric. Food Chem.* 54: 3351-3356

Davies, N. Downey, G. e McIntyre, P. (2003). Geographic classification of extra virgin olive oils from the eastern Mediterranean by chemometric analysis of visible and near-infrared spectroscopic data. *Applied spectroscopy*, 57: 158-163

Di Giovacchino, L., Costantini, N., Serraiocco, A., Surricchio, G., Basti , C. (2001) Natural antioxidants and volatile compounds of virgin olive oils obtained by two or three-phases centrifugal decanters

Di Giovacchino, L., Sestili, S. and Di Vincenzo, D. (2002). Influence of olive processing on virgin olive oil quality. *Eur. J. Lipid Sci. Technol.* 104: 587–601.

F. Peres, L. Martins e S. Ferreira-Dias (2017) Influence of enzymes and technology on virgin olive oil composition, *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 57:14, 3104-3126, DOI: 10.1080/10408398.2015.1092107

FDA (1993) Enforcement Report. Disponível em:

<http://web.archive.org/web/20090119124739/http://www.fda.gov/bbs/topics/ENFORCE/ENF00237.html> Acesso em: 23/07/2019

Filho, P. (2014). Developing a rapid and sensitive method for determination of trans-fatty acids in edible oils using middle-infrared spectroscopy. *Food Chemistry* 158: 1–7

Golebiowski, T. (2004). Near infrared reflectance spectroscopy of oil in intact canola seed (*Brassica napus*, L.). I. Attributes of the intact seed spectrum. *J. Near infrared Spectrosc.* 12: 325-330

Gomes, L (2015) Oliveira, azeite e águas residuais – parte II disponível em <https://scientificusblogpt.wordpress.com/2015/05/12/oliveira-azeite-e-aguas-residuais-parte-ii/> Acesso em: 12/09/2019

Jornal de notícias (2018). Disponível em: <https://www.jn.pt/economia/interior/asae-apreende-cerca-de-duas-mil-garrafas-de-azeite-virgem-extra-adulterado-9925985.html> Acesso em 05/08/2019

Moore, M. (2008) *Italian police crack down on olive oil fraud*. The Daily Telegraph. Disponível em: <http://www.telegraph.co.uk/news/worldnews/1580807/Italian-police-crack-down-on-olive-oil-fraud.html> Acesso em: 23/07/2019

Mueller, T. (2007) *Slippery Business – The trade in adulterated olive oil*. Disponível em: <http://www.newyorker.com/magazine/2007/08/13/slippery-business>. Acesso em: 23/07/2019

Peres F., L. L. Martins, M. Mourato, C. Vitorino, P. Antunes, S. Ferreira-Dias, 2016, Phenolic compounds of 'Galega Vulgar' and 'Cobrançosa' olive oils along early ripening stages. *Food Chemistry*, 211: 51-58

Pisa, N. (2008) Forty arrested in new "fake" olive oil scam. *News Scotsman*. Disponível em: <http://web.archive.org/web/20090109171716/http://news.scotsman.com/world/Forty-arrested-in-new-39fake39.4005000.jp> Acesso em: 23/07/2019

Regulamento (CEE) N. o 2568/91

Regulamento (UE) nº 1308/2013 L 347/820

Shaker, M. A. and Azza, A. A. (2013) Relationship between volatile compounds of olive oil and sensory attributes, *International Food Research Journal* 20: 202

Siesler, H. W., Ozaki, Y., Kawata, S. & Heise, H. M., (2002). Near Infrared Spectroscopy: Principles, Instruments, Applications. *Weinheim: Wiley-VCH*.

Wikipedia. Fourier-transform infrared spectroscopy. Disponível em: [https://en.wikipedia.org/wiki/Fourier-transform\\_infrared\\_spectroscopy](https://en.wikipedia.org/wiki/Fourier-transform_infrared_spectroscopy). Acesso em: 15/09/2019

Wikipedia. Infrared spectroscopy. Disponível em: [https://en.wikipedia.org/wiki/Infrared\\_spectroscopy](https://en.wikipedia.org/wiki/Infrared_spectroscopy). Acesso em: 15/09/2019

Wright, R. (2000) *Beware of the cheap olive oil impersonator*. CBCnews. Disponível em: <http://web.archive.org/web/20090418055344/http://www.cbc.ca/consumers/market/files/food/oliveoil/index.html> Acesso em: 23/07/2019



Anexo 1 – Características de qualidade dos azeites e óleos de bagaço de azeitona (Fonte - Regulamento (CEE) Nº 2568/91)

**CARACTERÍSTICAS DOS AZEITES E ÓLEOS DE BAGAÇO DE AZEITONA**

**Características de qualidade**

| Categoria   | Acidez (%) (*) | Índice de peróxidos mEq O <sub>2</sub> /kg (*) | K <sub>232</sub> (*) | K <sub>268</sub> ou K <sub>270</sub> (*) | Delta-K (*) | Exame organolético            |                             | Ésteres etílicos de ácidos gordos mg/kg (*) |
|---|----------------|--|----------------------|--|-------------|-------------------------------|-----------------------------|---|
|   |                |  |                      |  |             | Mediana dos defeitos (Md) (*) | Mediana do frutado (Mf) (*) |   |
| 1. Azeite virgem extra  | ≤ 0,8          | ≤ 20   | ≤ 2,50               | ≤ 0,22                                   | ≤ 0,01      | Md = 0                        | Mf > 0                      | ≤ 35  |
| 2. Azeite virgem  | ≤ 2,0          | ≤ 20   | ≤ 2,60               | ≤ 0,25                                   | ≤ 0,01      | Md ≤ 3,5                      | Mf > 0                      | —   |
| 3. Azeite lampante  | > 2,0          | —  | —                    | —  | —           | Md > 3,5 <sup>(1)</sup>       | —                           | —   |
| 4. Azeite refinado  | ≤ 0,3          | ≤ 5  | —                    | ≤ 1,25                                   | ≤ 0,16      | —                             | —                           | —   |
| 5. Azeite (constituído por azeites refinados e azeites virgens) | ≤ 1,0          | ≤ 15   | —                    | ≤ 1,15                                   | ≤ 0,15      | —                             | —                           | —   |
| 6. Óleo de bagaço de azeitona bruto                             | —              | —  | —                    | —  | —           | —                             | —                           | —   |
| 7. Óleo de bagaço de azeitona refinado                          | ≤ 0,3          | ≤ 5  | —                    | ≤ 2,00                                   | ≤ 0,20      | —                             | —                           | —   |
| 8. Óleo de bagaço de azeitona                                   | ≤ 1,0          | ≤ 15   | —                    | ≤ 1,70                                   | ≤ 0,18      | —                             | —                           | —   |

<sup>(1)</sup> A mediana dos defeitos pode ser inferior ou igual a 3,5 se a mediana do frutado for igual a 0.

Anexo 2– Características de pureza dos azeites e óleos de bagaço de azeitona (Fonte - Regulamento (CEE) Nº 2568/91)

Características de pureza

| Categoria   | Teor de ácidos gordos (1) |                |                |                 |             |                 | Total dos isómeros transoleicos (%) | Total de isómeros dos ácidos trans-linoleico + trans-linolénico (%) | Estigmastadienos mg/kg (2) | ►C4 Diferença: ECN42 (determinado por HPLC) e ECN42 (obtido por cálculo teórico) ◀ | Monopalmitato de 2-glicerilo (%)           |
|---|---------------------------|----------------|----------------|-----------------|-------------|-----------------|-------------------------------------|---|----------------------------|--|--|
|   | Mirístico (%)             | Linolénico (%) | Araquídico (%) | Eicosenoico (%) | Beénico (%) | Lignocérico (%) |                                     |   |                            |  |  |
| 1. Azeite virgem extra  | ≤ 0,03                    | ≤ 1,00         | ≤ 0,60         | ≤ 0,50          | ≤ 0,20      | ≤ 0,20          | ≤ 0,05                              | ≤ 0,05  | ≤ 0,05                     | ►C4 ≤  0,2  ◀  | ≤ 0,9 se % de ácido palmítico total ≤ 14 % |
|   |                           |                |                |                 |             |                 |                                     |   |                            |  | ≤ 1,0 se % de ácido palmítico total > 14 % |
| 2. Azeite virgem  | ≤ 0,03                    | ≤ 1,00         | ≤ 0,60         | ≤ 0,50          | ≤ 0,20      | ≤ 0,20          | ≤ 0,05                              | ≤ 0,05  | ≤ 0,05                     | ►C4 ≤  0,2  ◀  | ≤ 0,9 se % de ácido palmítico total ≤ 14 % |
|   |                           |                |                |                 |             |                 |                                     |   |                            |  | ≤ 1,0 se % de ácido palmítico total > 14 % |
| 3. Azeite lampante  | ≤ 0,03                    | ≤ 1,00         | ≤ 0,60         | ≤ 0,50          | ≤ 0,20      | ≤ 0,20          | ≤ 0,10                              | ≤ 0,10  | ≤ 0,50                     | ►C4 ≤  0,3  ◀  | ≤ 0,9 se % de ácido palmítico total ≤ 14 % |
|   |                           |                |                |                 |             |                 |                                     |   |                            |  | ≤ 1,1 se % de ácido palmítico total > 14 % |
| 4. Azeite refinado  | ≤ 0,03                    | ≤ 1,00         | ≤ 0,60         | ≤ 0,50          | ≤ 0,20      | ≤ 0,20          | ≤ 0,20                              | ≤ 0,30  | —                          | ►C4 ≤  0,3  ◀  | ≤ 0,9 se % de ácido palmítico total ≤ 14 % |
|   |                           |                |                |                 |             |                 |                                     |   |                            |  | ≤ 1,1 se % de ácido palmítico total > 14 % |
| 5. Azeite (constituído por azeites refinados e azeites virgens) | ≤ 0,03                    | ≤ 1,00         | ≤ 0,60         | ≤ 0,50          | ≤ 0,20      | ≤ 0,20          | ≤ 0,20                              | ≤ 0,30  | —                          | ►C4 ≤  0,3  ◀  | ≤ 0,9 se % de ácido palmítico total ≤ 14 % |
|   |                           |                |                |                 |             |                 |                                     |   |                            |  | ≤ 1,0 se % de ácido palmítico total > 14 % |

Anexo 3– Características de pureza dos azeites e óleos de bagaço de azeitona (2ª parte) (Fonte - Regulamento (CEE) N° 2568/91)

| Categoria                              | Teor de ácidos gordos <sup>(1)</sup> |                |                |                 |             |                 | Total dos isómeros transoleicos (%) | Total de isómeros dos ácidos trans-linoleico + trans-linolénico (%) | Estigmastadienos mg/kg <sup>(2)</sup> | ► <u>C4</u> Diferença: ECN42 (determinado por HPLC) e ECN42 (obtido por cálculo teórico) ◀ | Monopalmitato de 2-glicerilo (%) |
|--|--------------------------------------|----------------|----------------|-----------------|-------------|-----------------|-------------------------------------|---|---------------------------------------|--|----------------------------------|
|  | Mirístico (%)                        | Linolénico (%) | Araquídico (%) | Eicosenoico (%) | Beénico (%) | Lignocérico (%) |                                     |   |                                       |  |                                  |
| 6. Óleo de bagaço de azeitona bruto    | ≤ 0,03                               | ≤ 1,00         | ≤ 0,60         | ≤ 0,50          | ≤ 0,30      | ≤ 0,20          | ≤ 0,20                              | ≤ 0,10  | —                                     | ► <u>C4</u> ≤  0,6  ◀  | ≤ 1,4                            |
| 7. Óleo de bagaço de azeitona refinado | ≤ 0,03                               | ≤ 1,00         | ≤ 0,60         | ≤ 0,50          | ≤ 0,30      | ≤ 0,20          | ≤ 0,40                              | ≤ 0,35  | —                                     | ► <u>C4</u> ≤  0,5  ◀  | ≤ 1,4                            |
| 8. Óleo de bagaço de azeitona          | ≤ 0,03                               | ≤ 1,00         | ≤ 0,60         | ≤ 0,50          | ≤ 0,30      | ≤ 0,20          | ≤ 0,40                              | ≤ 0,35  | —                                     | ► <u>C4</u> ≤  0,5  ◀  | ≤ 1,2                            |

| Categoria              | Composição esterólica |                    |                                |                   |                                     |  | Esteróis totais (mg/kg) | Eritrodiol e uvaol (%) <sup>(**)</sup> | Ceras mg/kg <sup>(**)</sup>  |
|------------------------|-----------------------|--------------------|--------------------------------|-------------------|-------------------------------------|--|-------------------------|--|--|
|                        | Colesterol (%)        | Brassicasterol (%) | Campesterol <sup>(3)</sup> (%) | Estigmasterol (%) | Sitosterol β ap. (%) <sup>(4)</sup> | Delta-7-Estigmasterol <sup>(3)</sup> (%) |                         |  |  |
| 1. Azeite virgem extra | ≤ 0,5                 | ≤ 0,1              | ≤ 4,0                          | < Camp.           | ≥ 93,0                              | ≤ 0,5                                    | ≥ 1 000                 | ≤ 4,5                                  | C <sub>42</sub> + C <sub>44</sub> + C <sub>46</sub> ≤ 150                                  |
| 2. Azeite virgem       | ≤ 0,5                 | ≤ 0,1              | ≤ 4,0                          | < Camp.           | ≥ 93,0                              | ≤ 0,5                                    | ≥ 1 000                 | ≤ 4,5                                  | C <sub>42</sub> + C <sub>44</sub> + C <sub>46</sub> ≤ 150                                  |
| 3. Azeite lampante     | ≤ 0,5                 | ≤ 0,1              | ≤ 4,0                          | —                 | ≥ 93,0                              | ≤ 0,5                                    | ≥ 1 000                 | ≤ 4,5 <sup>(5)</sup>                   | C <sub>40</sub> + C <sub>42</sub> + C <sub>44</sub> + C <sub>46</sub> ≤ 300 <sup>(5)</sup> |
| 4. Azeite refinado     | ≤ 0,5                 | ≤ 0,1              | ≤ 4,0                          | < Camp.           | ≥ 93,0                              | ≤ 0,5                                    | ≥ 1 000                 | ≤ 4,5                                  | C <sub>40</sub> + C <sub>42</sub> + C <sub>44</sub> + C <sub>46</sub> ≤ 350                |

Anexo 4– Características de pureza dos azeites e óleos de bagaço de azeitona (3ªparte) (Fonte - Regulamento (CEE) N° 2568/91)

| Categoria   | Composição esterólica |                    |                     |                  |                          |                               | Esteróis totais (mg/kg) | Eritrodiol e uvaol (%) (**) | Ceras mg/kg (**)                              |
|---|-----------------------|--------------------|---------------------|------------------|--------------------------|-------------------------------|-------------------------|-----------------------------|---|
|   | Coolesterol (%)       | Brassicasterol (%) | Campesterol (*) (%) | Stigmasterol (%) | Sitosterol β ap. (%) (*) | Delta-7-Estigmastenol (*) (%) |                         |                             |   |
| 5. Azeite (constituído por azeites refinados e azeites virgens) | ≤ 0,5                 | ≤ 0,1              | ≤ 4,0               | < Camp.          | ≥ 93,0                   | ≤ 0,5                         | ≥ 1 000                 | ≤ 4,5                       | $C_{40} + C_{42} + C_{44} + C_{46} \leq 350$  |
| 6. Óleo de bagaço de azeitona bruto                             | ≤ 0,5                 | ≤ 0,2              | ≤ 4,0               | —                | ≥ 93,0                   | ≤ 0,5                         | ≥ 2 500                 | > 4,5 (*)                   | $C_{40} + C_{42} + C_{44} + C_{46} > 350$ (*) |
| 7. Óleo de bagaço de azeitona refinado                          | ≤ 0,5                 | ≤ 0,2              | ≤ 4,0               | < Camp.          | ≥ 93,0                   | ≤ 0,5                         | ≥ 1 800                 | > 4,5                       | $C_{40} + C_{42} + C_{44} + C_{46} > 350$     |
| 8. Óleo de bagaço de azeitona                                   | ≤ 0,5                 | ≤ 0,2              | ≤ 4,0               | < Camp.          | ≥ 93,0                   | ≤ 0,5                         | ≥ 1 600                 | > 4,5                       | $C_{40} + C_{42} + C_{44} + C_{46} > 350$     |

(1) Teores de outros ácidos gordos (%): palmítico: 7,50-20,00; palmitoleico: 0,30-3,50; heptadecanoico: ≤ 0,40; heptadecenoico: ≤ 0,60; esteárico: 0,50-5,00; oleico: 55,00-83,00; linoleico: 2,50-21,00.

(2) Soma dos isómeros, separáveis ou não em coluna capilar

(3) Ver o apêndice ao presente anexo.

(4) Sitosterol β aparente: delta-5,23-estigmastadienol + cleroesterol + -sitosterol + sitostanol + delta-5-avenasterol + delta-5,24-estigmastadienol.

(5) Os azeites cujo teor de ceras esteja compreendido entre 300 mg/kg e 350 mg/kg são considerados azeite lampante se o teor de álcoois alifáticos totais for inferior ou igual a 350 mg/kg ou se a percentagem de eritrodiol e uvaol for inferior ou igual a 3,5 %.

(6) Os óleos cujo teor de ceras esteja compreendido entre 300 mg/kg e 350 mg/kg são considerados óleo de bagaço de azeitona bruto se o teor de álcoois alifáticos totais for superior a 350 mg/kg e a percentagem de eritrodiol e uvaol for superior a 3,5 %.

Notas:

- Os resultados das análises devem ser expressos com um número de algarismos significativos idêntico ao previsto para cada característica. Se o algarismo seguinte for superior a 4, o último algarismo significativo deve ser aumentado de uma unidade.
- Basta que uma das características esteja fora dos limites fixados para que o produto seja classificado noutra categoria ou declarado não conforme quanto à sua pureza, para os efeitos do presente regulamento.
- O asterisco (\*) associado a determinadas características de qualidade do azeite significa o seguinte: no caso do azeite lampante, que os limites correspondentes podem não ser observados simultaneamente; no caso dos azeites virgens, que a inobservância de um dos limites correspondentes implica uma mudança de categoria, mantendo-se, porém, a classificação numa das categorias de azeites virgens.
- No caso dos óleos de bagaço de azeitona, os limites relativos às características assinaladas com dois asteriscos (\*\*) podem não ser observados simultaneamente.